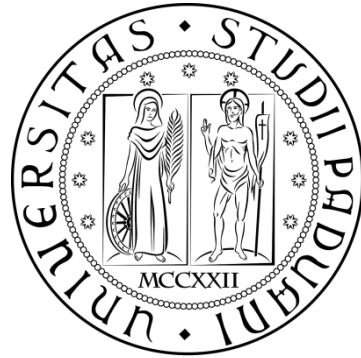


**UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA**

**DIPARTIMENTO DI INGEGNERIA INDUSTRIALE**

Corso di Laurea Magistrale in Ingegneria Meccanica



TESI DI LAUREA MAGISTRALE

**CONFRONTO TOPOLOGICO DI SCAFFOLDS IN  
MATERIALI BIOCERAMICI REALIZZATI  
ATTRAVERSO TECNICHE DI MANIFATTURA  
ADDITIVA**

*Relatore: Prof. Enrico Bernardo*

*Correlatori: Prof. Giampaolo Savio*

*Dott. Hamada Elsayed*

*Laureando: ANDREA MAZZER*

ANNO ACCADEMICO 2018-2019

# Sommario

Capitolo 1 .....	5
I biomateriali, i bioceramici e le loro applicazioni.....	5
1.1 I biomateriali.....	5
1.1.1 Classificazione .....	6
1.1.2 Biomateriali per rigenerazione ossea.....	7
1.2 I ceramici, i bioceramici e le loro applicazioni.....	10
1.2.1 I bioceramici e il collegamento all'interfaccia .....	11
1.3 I bioceramici silicatici.....	15
1.3.1 Scaffold e schiume di bioceramici silicatici .....	18
1.3.2 Proprietà meccaniche dei bioceramici silicatici .....	19
Capitolo 2.....	23
Tecnologie di produzione .....	23
2.1 Direct Ink Writing (DIW) .....	23
2.2 La tecnologia PDC .....	24
2.3 I polimeri preceramici.....	25
2.3.1 Formatura e reticolazione.....	29
2.3.2 L'aggiunta di <i>fillers</i> .....	29
2.4 Conversione da polimero a ceramico.....	32
2.4.1 Conversione in aria.....	32
2.4.2 Conversione in atmosfera inerte.....	33
2.5 Digital Light Processing (DLP) .....	34
2.6 La sinter-cristallizzazione .....	34
Capitolo 3.....	37
I solidi cellulari.....	37
3.1 Introduzione .....	37
3.2 Struttura .....	38
3.2.1 <i>Scaffolds</i> e schiume per applicazioni biomedicali.....	38
3.3 Proprietà meccaniche .....	40

3.3.1	Relazione resistenza-porosità.....	42
3.3.2	Relazione resistenza-dimensioni .....	44
Capitolo 4	.....	45
	Materiali e metodi .....	45
4.1	I materiali.....	45
4.1.1	Lo <i>sphene</i> .....	45
4.1.2	Il vetro WDE.....	46
4.2	La strumentazione.....	46
4.2.1	Forni .....	47
4.2.2	Diffattometria a raggi X – Analisi XRD .....	47
4.2.3	Stereomicroscopio ottico .....	48
4.2.4	Picnometro.....	48
4.2.5	Prova di compressione .....	49
4.2.6	Stampante <i>Direct Ink Writing</i> .....	49
4.2.7	Stampante DLP .....	51
4.3	Procedura sperimentale .....	53
4.3.1	Procedura di stampa DIW.....	53
4.3.2	Progettazione dei modelli 3D degli <i>scaffolds</i> e generazione del <i>g-code</i> contenente le istruzioni macchina.....	54
4.3.2.1	<i>Scaffolds</i> Esagonali.....	55
4.3.2.2	<i>Scaffolds</i> reticolati .....	60
4.3.2.3	Utilizzo di Rhinoceros 5 e del suo plug-in Grasshopper™ per generare i codici G-code .....	63
4.3.3	Proof of concept: Gyroide da Direct Ink Writing .....	66
4.3.3.1	Ottenimento delle curve descriventi il <i>Gyroide</i> ed estrazione del <i>G-code</i> .....	68
4.3.4	Preparazione dell'inchiostro e stampa DIW .....	74
4.3.5	Essiccamento e sinterizzazione.....	74
4.3.6	Procedura di stampa DLP.....	75
4.3.6.1	Preparazione della miscela .....	75
4.3.6.2	Generazione del modello virtuale 3D e stampa SL .....	76

4.3.6.3 Essiccamento e sinterizzazione .....	80
4.3.7 Misure di densità e porosità con il picnometro.....	80
4.3.7.1 Densità geometrica .....	80
4.3.7.2 Densità apparente.....	80
4.3.7.3 Densità vera.....	81
4.3.7.4 Misure di porosità.....	81
4.3.8 Prove di compressione .....	82
4.3.9 Diffrazione a raggi-X.....	82
Capitolo 5 .....	85
Risultati e discussione: <i>scaffolds</i> da DIW ( <i>Direct Ink Writing</i> ) .....	85
5.1 Realizzazione di <i>scaffolds</i> .....	85
5.1.1 Giroide da DIW .....	90
5.2 <i>Scaffolds</i> dopo trattamento termico .....	93
5.2.1 Analisi XRD .....	97
5.2.2 Ritiri volumetrici .....	98
5.3 Misure di densità e prova meccanica di compressione.....	99
5.4 Prova meccanica di flessione a 4 punti.....	107
5.4.1 Schema statico della prova .....	108
5.4.2 Risultati e discussione .....	109
Capitolo 6 .....	113
Risultati e discussione: <i>scaffolds</i> da DLP ( <i>Digital Light Processing</i> ) .....	113
6.1 Realizzazione di <i>scaffolds</i> .....	113
6.2 Gli <i>scaffolds</i> dopo trattamento termico.....	116
6.2.1 Analisi XRD .....	119
6.2.2 Ritiri volumetrici .....	120
6.3 Misure di densità e prova meccanica di flessione a 4 punti .....	120
Bibliografia.....	123



# Capitolo 1

## I biomateriali, i bioceramici e le loro applicazioni

*Il primo capitolo è volto a presentare i biomateriali in senso lato, le caratteristiche a cui essi devono attenersi per essere definiti tali, le interazioni con l'ambiente biologico e le loro principali funzioni. Dopodiché ci si concentrerà maggiormente sui materiali oggetto di questa tesi e costituenti un sottoinsieme dei biomateriali, ovvero i bioceramici: perché risultano essere particolarmente idonei alle applicazioni biomedicali che riguardano la rigenerazione del tessuto osseo. Infine, si indagheranno, come parte integrante dei bioceramici, i ceramici silicatici e i vetroceramici bioattivi.*

### 1.1 I biomateriali

La definizione di biomateriale che riscontra il più ampio consenso nella comunità scientifica è quella stabilita nel corso della II International Consensus Conference on Biomaterials, Chester, Gran Bretagna, nel 1991: *“Si definisce biomateriale un materiale concepito per interfacciarsi con i sistemi biologici per valutare, dare supporto o sostituire un qualsiasi tessuto, organo o funzione del corpo”.*

Vi sono due importanti proprietà che devono essere prese in considerazione, prima di tutto per considerare il biomateriale come tale, inoltre anche per valutarne le prestazioni:

- la **biocompatibilità**, che consiste nella caratteristica di stabilire interazioni “non sfavorevoli” con gli organismi con i quali esso viene a contatto;
- la **biofunzionalità**, che si riferisce alle proprietà che un dispositivo deve avere per riprodurre una determinata funzione dal punto di vista fisico e meccanico.

I primi studi in questo campo hanno origine nell'ambito della scienza dei materiali e dell'ingegneria e si sono concentrati sulle prestazioni meccaniche di dispositivi d'impianto. Ciò che è fruttato da tali esperienze è stato soprattutto il prendere atto delle reazioni negative del corpo di fronte a questi materiali, perciò la selezione dei “biomateriali” è stata limitata a quelli ritenuti “inerti”, ovvero che non creassero interazioni dannose tra il materiale impiantato e l'organismo vivente [1]. Conseguentemente a questa prima consapevolezza che è stata acquisita, sono state gettate le basi non solo per rendere dispositivi medicali e impianti “non dannosi” per l'ambiente biologico, ma soprattutto per far sì che ci siano biomateriali in grado di

interagire positivamente con i tessuti che li circondano. Ecco che, in base alla risposta dell'interazione impianto/tessuto, i biomateriali sono stati suddivisi in tre generazioni:

- *Prima generazione*: materiali biologicamente inerti usati per ripristinare le caratteristiche fisiche dei tessuti danneggiati. Questi materiali riducono la corrosione, il rilascio di ioni e particelle per minimizzare la risposta immunitaria;
- *Seconda generazione*: materiali bioattivi che interagiscono con l'ambiente biologico favorendo la risposta biologica e l'interazione impianto/tessuto, e materiali riassorbibili aventi la capacità di degradarsi mentre il tessuto si rigenera e guarisce;
- *Terza generazione*: materiali sia bioattivi sia biorassorbibili usati come strutture porose tridimensionali temporanee in grado di stimolare la rigenerazione dei tessuti [2].

Ad esempio, biomateriali di terza generazione potrebbero legarsi in modo efficace alle ossa e anche stimolare la differenziazione e la proliferazione di osteoblasti (si parlerebbe dunque di materiale osteoinduttivo) [3] [4] [5].

### 1.1.1 Classificazione

Esistono varie categorie di materiali biocompatibili. Possono essere classificati sulla base delle conseguenze che si verificano sul materiale dopo l'innesto, da cui la distinzione tra *biostabili* e *biodegradabili*.

Vengono definiti *biostabili* i materiali che, una volta posizionati in situ, non subiscono sostanziali trasformazioni chimiche e/o fisiche nel tempo.

Vengono definiti *biodegradabili* i materiali che, una volta impiantati, subiscono sostanziali trasformazioni chimiche e/o fisiche che li portano a scomparire nel tempo. Un altro tipo di classificazione, invece, considera l'interazione materiale-organismo, da cui le definizioni di *biotossici*, *bioattivi*, *bioinerti*, *biorassorbibili*.

I materiali *biotossici* sono quelli che provocano una reazione di rigetto da parte del tessuto biologico a causa processi di tipo chimico e/o galvanico.

I materiali *bioinerti* sono materiali stabili dal punto di vista chimico-fisico e presentano interazioni minime con i tessuti circostanti. Questi materiali consentono una buona coesistenza tra organismo e impianto.

I materiali *bioattivi* favoriscono le interazioni dirette di tipo biochimico con il tessuto biologico, che può crescere sulla superficie del materiale stesso. Tutto ciò permette l'instaurarsi di un solido legame dal punto di vista meccanico tra il tessuto naturale e

l'impianto protesico. Tipici esempi di materiali bioattivi sono alcuni materiali ceramici, come l'idrossiapatite ed i biovetri.

I materiali *biorisorbibili* subiscono una progressiva degradazione all'interno del sistema biologico, senza che questo provochi reazioni di rigetto o effetti tossici. Appartengono a questa classe i fosfati di calcio come il fosfato tricalcico, l'idrossiapatite porosa, alcuni biovetri. Essi sono generalmente bioattivi e vengono gradualmente rimpiazzati dal tessuto biologico. Per queste loro caratteristiche, essi sono particolarmente utili nel caso in cui la protesi sostitutiva debba occupare uno spazio limitato. Vengono anche molto usati per il rilascio controllato di farmaci.

Infine, un'ultima distinzione viene fatta sulla base della natura chimica: biomateriali *polimerici, metallici, ceramici, compositi*.

Poiché si riscontrano limitazioni nelle funzioni che i biomateriali artificiali possono compiere, la ricerca biomedica è sempre più orientata verso la rigenerazione o ricrescita di tessuti biologici in quanto danneggiati o malati. L'ingegneria tissutale ha dunque come obiettivo quello di portare la ricrescita di nuovo tessuto. Questa ricrescita avviene da parte di cellule viventi che in questo processo di rigenerazione vengono guidate proprio dal substrato artificiale aggiunto. Questo substrato, chiamato *scaffold*, deve essere necessariamente compatibile, quindi possibilmente bioattivo e/o biorisorbibile, con le cellule con cui andrà a contatto, andando a favorire la loro ricrescita grazie alla sua composizione chimica e alla sua forma. Parte degli scaffolds sono oggi polimerici, ma per la ricrescita di tessuti duri quali ossa e denti sono necessari scaffolds ceramici, scelti soprattutto per la loro elevata biocompatibilità [1].

### **1.1.2 Biomateriali per rigenerazione ossea**

Le ossa sono costituite di un materiale composito naturale, fatto di collagene (un polimero), che costituisce la matrice del composito, e minerale osseo (un ceramico), che conferisce resistenza alla struttura.

L'osso è principalmente costituito da due parti: osso compatto, o corticale, e osso spugnoso, o trabecolare. L'osso corticale ha una struttura densa con elevate proprietà meccaniche. L'osso spugnoso è una struttura interna porosa di supporto presente alle estremità di ossa lunghe come il femore: è un'impalcatura di filamenti che fungono da supporto, chiamati trabecole, che includono ampi vuoti (macropori) [6].

Con l'innalzamento dell'età media della popolazione e il prolungarsi dell'aspettativa di vita, aumenta la necessità di disporre di innesti ossei o materiali sintetici che possono potenzialmente sostituire, ripristinare o riparare il tessuto osseo perduto, malato o danneggiato [7].



L'ingegneria tissutale (TE: *Tissue Engineering*) è uno degli approcci che si sta sviluppando per risolvere questo tipo di problemi.

I metalli come il titanio e alcune sue leghe sono utilizzati per realizzare impianti ortopedici e dentali, che possiedono elevata resistenza meccanica, all'usura e duttilità.

Ad ogni modo, la loro scarsa biocompatibilità e l'elevato tasso di corrosione sono dannosi per i tessuti viventi. Per di più, possono provocare reazioni allergiche nell'organismo dovute all'elevata diffusione di ioni metallici, con il risultato di rovinare irreparabilmente il tessuto umano [7].

I polimeri godono di flessibilità di composizione, caratteristica che li distingue. Tuttavia, i materiali polimerici non possono sopportare le sollecitazioni presenti in campo ortopedico a causa della loro bassa resistenza meccanica.

I ceramici usati per la ricostruzione di parti danneggiate del sistema muscolo-scheletrico, chiamati *bioceramici*, possono essere inerti (allumina, zirconia), riassorbibili (fosfato di tricalcio), bioattivo (idrossiapatite, vetro bioattivo, vetroceramiche) [8], o porosi per la crescita dei tessuti [9]. I ceramici sono una categoria migliore di materiali, che generalmente hanno elevata resistenza alla corrosione e alla compressione, unitamente a buona biocompatibilità. La loro natura fragile, l'elevata densità, il basso carico di rottura e la bassa tenacità a frattura possono provocare problemi, nonostante le loro ottime proprietà bioattive.

Individualmente, tutte queste classi di materiali presentano diversi problemi, ma se vengono combinati insieme a formare un composito, l'effetto sinergico di tutte le componenti può migliorare le caratteristiche meccaniche e di bioattività.

La Figura 1.1 [10] mostra l'uso dei biomateriali in diverse applicazioni, tra cui la sostituzione delle anche, ginocchia, denti, tendini, legamenti e riparazioni per malattia paradontale, ricostruzioni maxillo facciali, crescita dell'osso della mandibola, fusione spinale e cariche ossee dopo azioni chirurgiche contro i tumori.

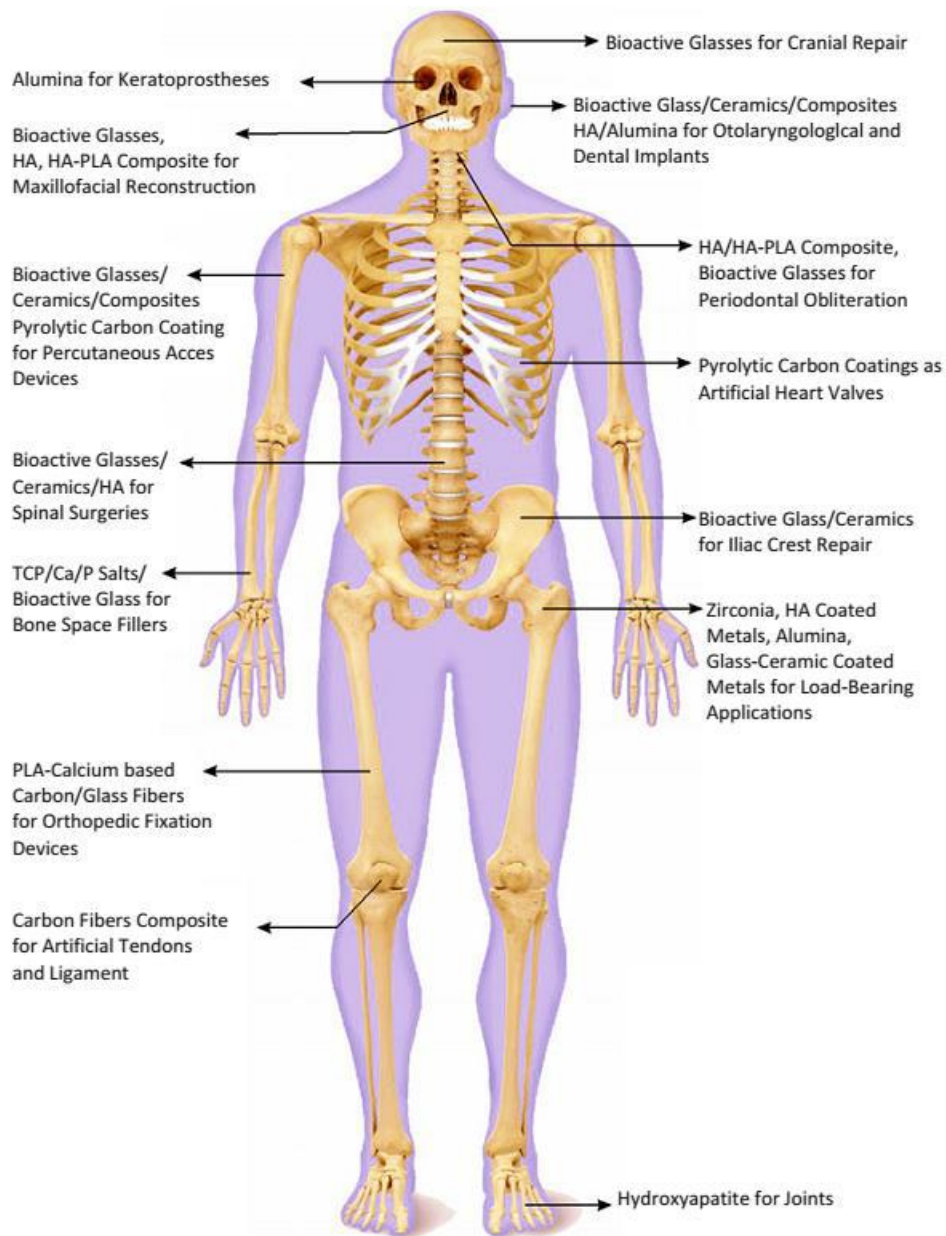


Figura 1.1 Utilizzo dei biomateriali nel corpo umano per varie applicazioni [10].

L'ingegneria tissutale era un tempo classificata come una branca dei biomateriali, ma essendo cresciuta in portata e importanza può essere considerata come un campo a sé stante. È l'uso di combinazioni di cellule, ingegneria, studio dei materiali e idonei fattori biochimici e fisio-chimici a migliorare o sostituire le funzioni vitali.

Benché la maggior parte delle definizioni che riguardano l'ingegneria tissutale copre un ampio raggio di applicazioni, in pratica il termine è strettamente associato alla riparazione o sostituzione di porzioni di tessuto (ossa, cartilagini, vasi sanguigni, sacche, cute ecc.)

## 1.2 I ceramici, i bioceramici e le loro applicazioni

I materiali inorganici non metallici, in particolare i bioceramici, hanno attirato particolarmente l'attenzione nel campo della rigenerazione dei tessuti duri per la loro capacità di favorire la formazione del nuovo osso.

Partendo dall'origine, il *bioceramico* è innanzitutto un materiale *ceramico*, ovvero un qualsiasi solido inorganico e non metallico, ottenuto attraverso un processo ad alte temperature, generalmente caratterizzato dalla fragilità, dalla durezza e dalla elevata stabilità chimica. La maggior parte dei ceramici è riconducibile a composti tra ossigeno, carbonio e azoto con metalli e metalloidi come alluminio e silicio, che sono i cinque elementi più abbondanti sulla crosta terrestre. Circa la natura dei legami chimici, i ceramici si dividono tra materiali a legame prevalentemente ionico e a legame prevalentemente covalente; non è facile dare una definizione univoca di questo tipo di materiali, tanto che sono definiti da qualcuno come quei materiali che non sono classificabili né come metallici né come polimerici.

I materiali ceramici sono interessanti per la grande rigidità (elevato modulo elastico) e la grande durezza: una strategia per sfruttare queste proprietà senza per questo ottenere un materiale fragile è combinare materiali ceramici, sotto forma di particelle o di fibre, con materiali più tenaci quali polimerici e metallici, dando luogo a materiali compositi. Questi non sono solamente materiali "artificiali": un esempio tipico di composito naturale è costituito proprio dal tessuto osseo, composto da particelle di idrossiapatite (ceramico) legate da collagene (polimero).

I ceramici utilizzati per la riparazione o ricostruzione di parti malate o danneggiate del sistema muscolo-scheletrico, sono chiamati *bioceramici*.

Tra i materiali sintetici impiegati per la rigenerazione ossea disponibili sul mercato, i fosfati di calcio, come l'idrossiapatite (HA: *hydroxyapatite*) e il fosfato tricalcico, sono importanti bioceramici che sono largamente utilizzati per la loro eccellente bioattività, osteoconduttività e per la loro affinità con la composizione del tessuto osseo. La bioattività e biodegradabilità sono due aspetti critici nella progettazione dei bioceramici per applicazioni cliniche. I tentativi attuali sono rivolti verso la sintesi di bioceramici che abbiano un tasso di degradazione che ben si sposi con processo di formazione del nuovo osso, il che significa ottimizzare il mantenimento della resistenza meccanica dell'impianto durante l'intero processo dopo l'innesto [11].

Nelle ultime cinque decadi, c'è stata una rivoluzione nell'uso dei ceramici per migliorare la qualità della vita. Questa rivoluzione è consistita nell'uso di ceramici speciali, progettati appositamente per il ricambio e la ricostruzione di parti del corpo umano. I ceramici usati per questo scopo sono chiamati, come detto in precedenza, bioceramici [9]. Il termine

“bioceramico” è un termine generale, usato per coprire vetri, vetroceramici e ceramici che sono usati come materiali d’impianto.

Larry L. Hench fu in grado di elaborare un vetro del sistema  $\text{Na}_2\text{O}-\text{CaO}-\text{SiO}_2-\text{P}_2\text{O}_5$ , con alto contenuto in calcio e con composizione simile all’eutettico ternario nel diagramma  $\text{Na}_2\text{O}-\text{CaO}-\text{SiO}_2$  [5]. La scoperta principale fu che un vetro di composizione 46.1 mol.%  $\text{SiO}_2$ , 24.4 mol.%  $\text{Na}_2\text{O}$ , 26.9 mol.%  $\text{CaO}$  e 2.6 mol.%  $\text{P}_2\text{O}_5$ , in seguito chiamato 45S5 e Bioglass, formava un legame così forte con il tessuto osseo che non poteva essere rimosso se non rompendo l’osso stesso [3]. Questo ha dato il via al campo dei ceramici bioattivi, con molti nuovi materiali e prodotti formati da variazioni apportate ai vetri bioattivi [5], vetroceramici [12] e ceramici come l’idrossiapatite sintetica e altri fosfati di calcio [13]. Qui un materiale bioattivo è definito come un materiale che stimola una risposta positiva dal corpo, in modo particolare legandosi al tessuto “ospitante” (tipicamente ossa).

## 1.2.1 I bioceramici e il collegamento all’interfaccia

Generalmente possiamo classificare i bioceramici in diverse categorie, in base al loro comportamento all’interno del corpo umano e quindi a come avviene il collegamento al tessuto vivente:

- *Categoria 1* → **Bioinerti**: ceramici quasi inerti, densi, non porosi. Caratterizzati dalla mancanza di un legame chimico o biologico all’interfaccia impianto-osso, come nel caso in cui venga usata  $\text{Al}_2\text{O}_3$ , densa e non porosa. In questo caso i ceramici inerti aderiscono grazie alle irregolarità presenti sulla superficie, fissando il dispositivo sui tessuti;
- *Categoria 2* → **Bioinerti microporosi**: l’adesione della protesi ceramica al tessuto muscolo-scheletrico, è raggiunta grazie alla crescita dei tessuti nei pori sulla superficie o all’interno dell’impianto. La maggiore area disponibile all’interfaccia fa sì che ci sia una maggiore inerzia al movimento reciproco tra impianto e tessuto, che fa fissare meccanicamente le due superfici (*biological fixation*). La limitazione associata a questo tipo di bioceramici è che, per fare in modo che il tessuto si mantenga sano e vitale, ci siano pori più grandi di 100  $\mu\text{m}$  in diametro per assicurare l’apporto sanguigno. Un esempio di bioinerte microporoso è  $\text{Al}_2\text{O}_3$  porosa policristallina. Se il materiale è un metallo, l’incremento della superficie di contatto può innescare effetti di corrosione dell’impianto e la diffusione di ioni metallici nei tessuti, che possono provocare molteplici problemi, perciò per limitare questi fenomeni si sceglie di rivestire il metallo poroso con un ceramico bioattivo;

- **Categoria 3 → Bioattivi:** capaci di formare legami chimici diretti con il tessuto osseo, ma anche con tessuti molli di organismi viventi (idrossiapatite, vetri bioattivi, biovetrocaramica). Il fissaggio è quindi di tipo chimico;
- **Categoria 4 → Riassorbibili:** ceramici riassorbibili, densi, porosi o non porosi, che sono progettati per essere sostituiti in un periodo di tempo più o meno lungo, dal tessuto naturale che li ospita.

Complicazioni nello sviluppo dei ceramici riassorbibili sono:

- mantenimento della resistenza e della stabilità all'interfaccia durante il periodo di degradazione e la sostituzione da parte del tessuto naturale;
- trovare l'accoppiamento tra il tasso di crescita del tessuto naturale e il tasso di degradazione dell'impianto [9] [14].

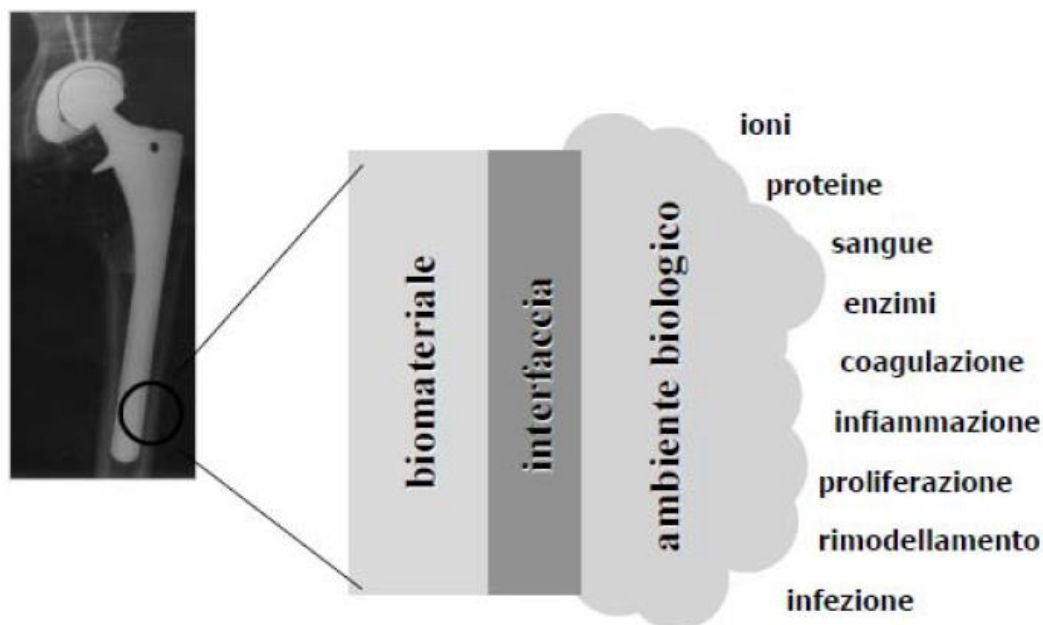


Figura 1.0.1. Schematizzazione del contatto biomateriale-ambiente biologico [14].

Nella Figura 1.3 [15] viene riportato un confronto tra l'attività chimica relativa di queste diverse categorie di bioceramici. In particolare la reattività relativa mostrata in Figura 1.3, correla strettamente la velocità di formazione di un legame interfacciale tra gli impianti e l'osso. Il livello relativo di reattività di un impianto influenza lo spessore della zona interfacciale, ovvero la *layer* presente tra il materiale e il tessuto.

L'analisi degli impianti degli ultimi 40 anni, la cui interazione con il corpo è fallita, mostra che generalmente il problema proviene dall'interfaccia biomateriale-tessuto [16] [17].

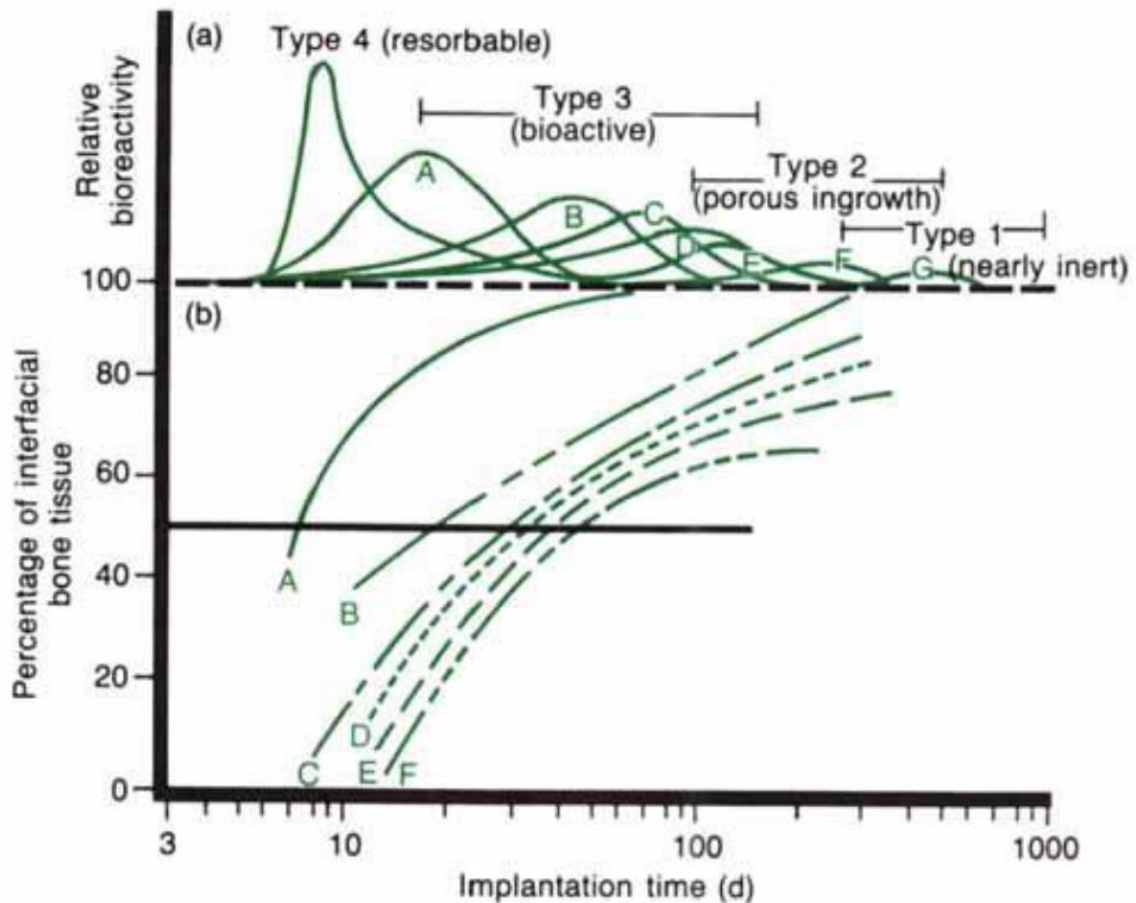


Figura 1.0.2. Spettro della Bioattività per diversi impianti bioceramici. (a) Velocità relativa di bioreattività. (b) Dipendenza dal tempo nella formazione del legame osso-impianto all'interfaccia [15].

Quando un biomateriale è quasi inerte (categoria 1) e l'interfaccia non è chimicamente o biologicamente legata, vi è possibile movimento relativo e uno sviluppo progressivo di una capsula fibrosa non aderente, sia nei tessuti molli che in quelli duri. Il movimento all'interfaccia biomateriale-tessuto porta al deterioramento dell'impianto o del tessuto, oppure di entrambi nella zona interfacciale. Lo spessore della capsula non aderente varia notevolmente a seconda del materiale e della portata di moto relativo.

Il concetto alla base dei materiali quasi inerti, bioceramici microporosi (categoria 2), è la crescita del tessuto internamente ai pori, sulla superficie o in tutto l'impianto, come trovato da Hulbert et Al. [18] molti anni fa. Una maggiore area di interfaccia tra l'impianto ed i tessuti determina un aumento della resistenza al movimento del dispositivo. L'interfaccia dunque è stabilita dal tessuto vivente che cresce nei pori. Questo metodo, come detto in precedenza, è chiamato *biological fixation* ed è in grado di resistere ai più complessi stati di sollecitazione rispetto agli impianti di categoria 1, che raggiungono fissaggio solo di tipo *morphological fixation*. La limitazione che si verifica essere presente negli impianti

porosi di categoria 2 è che, affinché il tessuto rimanga vitale e sano, è necessario che i pori siano di diametro maggiore di 100-150  $\mu\text{m}$ . La grande area interfacciale richiesta per la porosità è dovuta alla necessità di fornire apporto di sangue al tessuto connettivo cresciuto internamente: il tessuto vascolare non appare in pori di diametro inferiore ai 100  $\mu\text{m}$ .

Quando il materiale è un metallo, il grande aumento di superficie può fornire una possibilità maggiore che l'impianto si corroda e che vi sia la perdita di ioni metallici nei tessuti, che può causare una varietà di problemi ai tessuti stessi [19] [20].

Questi problemi possono essere diminuiti utilizzando un materiale ceramico bioattivo come HA (*hydroxyapatite*) nel ruolo di rivestimento al metallo poroso, come sperimentato da Ducheyne et al. [21]. Il rivestimento di HA accelera anche la formazione ossea nei pori. Tuttavia, la grande dimensione richiesta per la porosità, necessaria per la crescita ossea, in qualsiasi materiale, degrada la resistenza del materiale stesso. Di conseguenza, per risolvere il problema della stabilità interfacciale, è meglio utilizzare questa categoria in applicazioni dove si deve effettuare un rivestimento superficiale.

Biomateriali riassorbibili (categoria 4) sono progettati per degradare gradualmente in un periodo di tempo possibilmente ampio ed essere quindi sostituiti completamente dal tessuto ospitante naturale. Questo porta ad uno spessore interfacciale molto sottile o addirittura inesistente. È una soluzione ottimale al problema dell'interazione corpo-biomateriali, sempre se i requisiti di resistenza e performance a breve termine possono essere soddisfatti. I tessuti naturali possono riparare sé stessi e sono gradualmente rimpiazzati per tutta la vita da un continuo *turnover* di popolazioni di cellule. Quando invecchiamo, la sostituzione delle cellule e dei tessuti è più lenta e meno efficiente, questo concetto spiega in maniera semplice la ragione per cui le parti del corpo si usurano, alcune più velocemente di altre. Così i biomateriali riassorbibili si basano sugli stessi principi di riparazione e rigenerazione che si sono evoluti nel corso di milioni di anni. Tuttavia esistono anche delle complicazioni nello sviluppo di bioceramici riassorbibili, possiamo raggrupparle in due punti:

- Difficoltà a mantenere la forza e la stabilità all'interfaccia durante il periodo di degrado e sostituzione con il tessuto ospitante naturale.
- Grandi variazioni di tempo nella riparazione di tessuti nel corpo: alcuni si dissolvono troppo rapidamente, altri troppo velocemente.

Affinchè grandi quantità di materiale possano essere sostituite, è essenziale che un biomateriale riassorbibile sia costituito solamente da sostanze metabolicamente accettabili. Questo criterio impone notevoli limitazioni alla progettazione di tale tipologia di materiali. Ceramici porosi o *particulate calcium phosphate* come il fosfato tricalcico (TCP), sono materiali riassorbibili che hanno avuto successo per la sostituzione di tessuto

duro in cui è richiesta solo bassa resistenza meccanica, ad esempio in alcune riparazioni della mandibola o di altre parti della testa.

Per quanto riguarda il concetto di materiale bioattivo (categoria 3), questo si può considerare a metà tra il materiale riassorbibile e quello bioinerte [22] [23] [3].

Un materiale bioattivo è tale da suscitare una specifica risposta biologica all'interfaccia del materiale che si traduce in formazione di un legame tra il tessuto e l'impianto stesso. Questo concetto è stato ora ampliato al punto di includere un gran numero di materiali bioattivi con una vasta gamma di velocità di interazione/collegamento e relativo spessore degli strati leganti all'interfaccia.

Essi comprendono vetri bioattivi come *Bioglass*<sup>®</sup>, vetroceramiche quali *Ceravital*<sup>®</sup>, A/W vetroceramica, HA densa quali *durapatite* o *Calcitite*<sup>®</sup>, o composti bioattivi quali *Palavital*<sup>®</sup>, *Bioglass*<sup>®</sup> rinforzato con fibra in acciaio inox. Tutti questi materiali bioattivi, come detto, formano un legame interfacciale con il tessuto adiacente. Tuttavia la dipendenza dal tempo, la forza, il meccanismo di legame e lo spessore della zona di collegamento differiscono per i vari materiali.

## 1.3 I bioceramici silicatici

La bioattività e la biodegradabilità sono due aspetti critici nella progettazione di bioceramici per applicazioni cliniche. Tra i materiali sintetici utilizzati per rimpiazzare parti del tessuto osseo disponibili sul mercato, troviamo sicuramente i ceramici a base di fosfati di calcio (CaP) e i vetri bioattivi [11] [24]. I fosfati di calcio, come l'idrossiapatite (HA) e il fosfato tricalcico (TCP) sono importanti bioceramici che sono ampiamente usati per la loro eccellente bioattività, osteoconduttività e similarità nella composizione con il tessuto osseo [25].  $\beta$ -fosfato tricalcico ( $\beta$ -TCP:  $\beta$ -*tricalcium phosphate*) e l'idrossiapatite sono stati usati come materiali rigenerativi per le ossa. Tuttavia, uno svantaggio importante di questi materiali è la loro insufficiente resistenza meccanica, che li rende inadatti a sostituire le ossa, nelle applicazioni dove è necessario sopportare carichi.

Anche il biovetro introdotto da Hench, definito di terza generazione, presenta inconvenienti "strutturali", ovvero elevata fragilità, bassa resistenza alla flessione, resistenza alla frattura e lavorabilità.

I bioceramici silicatici cristallini hanno ricevuto grande attenzione per applicazioni riguardanti la sostituzione del tessuto osseo per la loro grande bioattività [26]. La *Wollastonite* ( $\text{CaSiO}_3$ ,  $\text{CaO-SiO}_2$ ) è il ceramico silicatico di calcio più semplice che esista, che consiste in rapporto molare tra CaO e  $\text{SiO}_2$  di 1:1. La wollastonite ha mostrato buona bioattività e resistenza meccanica se confrontata con quella dei ceramici a base di HA [27]. Tuttavia la sua biodegradabilità è troppo rapida [27]. C'è relazione tra la formazione



di apatite sulla superficie dei ceramici silicatici e il rilascio di alcuni ioni da parte di questi materiali: la capacità che accade la prima è direttamente associata alla dissoluzione di questi ultimi.

La wollastonite è ben conosciuta come bioceramico silicatico avente un alto tasso di degradazione e di rilascio di ioni, che causano la crescita del pH intorno all'impianto [28]. Il valore del pH intorno all'impianto è un fattore critico che ha effetti multipli sul metabolismo cellulare e influenza la proliferazione di cellule, nel senso che un aumento del pH ne inibisce la proliferazione [29] [25]. Inoltre, l'alto tasso di degradazione dei ceramici di wollastonite compromette le proprietà meccaniche e non concede abbastanza tempo per la formazione del nuovo tessuto osseo, nel caso in cui sia usata per impianti ortopedici.

L'aggiunta di ioni metallici come Zn, Sr, Mg, Zr nei ceramici silicatici a base di wollastonite cambia il loro tasso di dissoluzione.

In Tabella 1.1 troviamo i silicati più studiati, gli ossidi binari ternari e quaternari [30]

System	Names	Compositions	Main forms
Binary oxides	Wollastonite	$\text{CaSiO}_3$	Powders
	Dicalcium silicate	$\text{Ca}_2\text{SiO}_4$	Ceramics
	Tricalcium silicate	$\text{Ca}_3\text{SiO}_5$	Scaffolds Coatings
	Dimagnesium silicate	$\text{Mg}_2\text{SiO}_4$	Powders
	Magnesium silicate	$\text{MgSiO}_3$	Ceramics
	Zinc silicate	$\text{Zn}_2\text{SiO}_4$	Ceramics
	Strontium silicate	$\text{SrSiO}_3$	Powders
Ternary oxides	Akermanite	$\text{Ca}_2\text{MgSi}_2\text{O}_7$	Powders
	Bredigite	$\text{Ca}_7\text{MgSi}_4\text{O}_{16}$	Ceramics
	Diopside	$\text{CaMgSi}_2\text{O}_6$	Spheres
	Monticellite	$\text{CaMgSiO}_4$	Scaffolds
	Merwinite	$\text{Ca}_3\text{MgSi}_2\text{O}_8$	
	Hardystonite	$\text{Ca}_2\text{ZnSi}_2\text{O}_7$	Powders
		$\text{Zn}_{(x)}\text{CaSiO}(3+x)$	Ceramics
		$(\text{Sr}, \text{Ca})\text{SiO}_3$	Ceramics
	Sphene	$\text{CaTiSiO}_5$	Ceramics, coatings
	Baghdadite	$\text{Ca}_3\text{ZrSi}_2\text{O}_9$	Ceramics, spheres
	Silicocarnotite Nagelschmidite	$\text{Ca}_5\text{P}_2\text{SiO}_{12}$ $\text{Ca}_7\text{Si}_2\text{P}_2\text{O}_{16}$	Powders, ceramics
	Strontium-hardystonite	$\text{Sr}_2\text{ZnSi}_2\text{O}_7$	Ceramics
		$\text{CaNa}_2\text{SiO}_4$ $\text{Ca}_2\text{Na}_2\text{Si}_3\text{O}_9$	Ceramics
Quaternary oxides		$(\text{Sr}, \text{Ca})_2\text{ZnSi}_2\text{O}_7$	Scaffolds

Tabella 1.1. Composizioni e forme principali di ceramici silicatici [30].

Se mettiamo a confronto i bioceramici silicatici cristallini con i bioceramici a base di fosfati di calcio, i ceramici silicatici hanno una più varia composizione che può contribuire alla loro possibilità di aggiustare le proprietà fisico-chimiche come resistenza meccanica, bioattività e degradazione.

Un modo per indagare la bioattività del bioceramico in vitro è determinare la loro abilità nel formare uno strato di apatite in un'analisi SBF (*Simulated Body Fluid*). È interessante notare che alcuni bioceramici silicatici possiedono diversa capacità di mineralizzazione dell'apatite, come mostra la Tabella 1.2. La mineralizzazione dell'apatite è direttamente dipendente dalla composizione chimica e dalla dissoluzione.

Names	Compositions	Apatite mineralization	Dissolution Rate
Wollastonite	$\text{CaSiO}_3$	Excellent	Quick
Dicalcium silicate	$\text{Ca}_2\text{SiO}_4$		
Tricalcium silicate	$\text{Ca}_3\text{SiO}_5$		
Bredigite	$\text{Ca}_7\text{MgSi}_4\text{O}_{16}$		
Nagelschmittite	$\text{Ca}_7\text{Si}_2\text{P}_2\text{O}_{16}$		
Akermanite	$\text{Ca}_2\text{MgSi}_2\text{O}_7$	Good	Common
Merwinite	$\text{Zn}_2\text{SiO}_4$		
Silicocarnotite	$\text{Ca}_5\text{P}_2\text{SiO}_{12}$		
Strontium silicate	$\text{SrSiO}_3$		
Diopside	$\text{CaMgSi}_2\text{O}_6$	Common	Slow
Monticellite	$\text{CaMgSiO}_4$		
Baghdadite	$\text{Ca}_3\text{ZrSi}_2\text{O}_9$		
Dimagnesium silicate	$\text{Mg}_2\text{SiO}_4$	Poor	Very slow
Magnesium silicate	$\text{MgSiO}_3$		
Zinc silicate	$\text{Zn}_2\text{SiO}_4$		
Hardystonite	$\text{Ca}_2\text{ZnSi}_2\text{O}_7$		
Sphene	$\text{CaTiSiO}_5$		
Strontium-hardystonite	$\text{Sr}_2\text{ZnSi}_2\text{O}_7$		

Tabella 1.2. Dissoluzione e mineralizzazione dell'apatite in bioceramici silicatici [30].

Si può notare come wollastonite, *dicalcium silicate*, *tricalcium silicate*, *bredigite* e *nagelschmittite* possiedono un'eccellente abilità di formazione del *layer* di apatite e la maggior velocità di dissoluzione negli SBF. L'apatite che si forma nei diversi bioceramici silicatici risulta significativamente differente come morfologia a seconda della composizione chimica del ceramico [30].

### 1.3.1 Scaffold e schiume di bioceramici silicatici

I bioceramici silicatici, come la wollastonite, diopside, akermanite e bredigite sono stati realizzati come strutture tridimensionali di *scaffold* porosi per applicazioni dell'ingegneria tissutale (TE). Sono state usate tre principali tecniche per preparare gli scaffold.

Il primo scaffold di  $\text{CaSiO}_3$  è stato realizzato con il metodo porogeno da Lin et al. [27] usando glicole polietilenico particellare.

Sebbene questo scaffold abbia buone proprietà meccaniche, il maggiore svantaggio degli scaffold di  $\text{CaSiO}_3$  preparati con questo metodo è che i pori non sono di grandezza uniforme e interconnessi, e ciò compromette una crescita efficiente delle cellule e il trasporto di nutrienti [31]. C. Wu e J. Chang prepararono  $\text{CaSiO}_3$ ,  $\text{CaMgSi}_2\text{O}_6$ ,  $\text{Ca}_2\text{MgSi}_2\text{O}_7$ ,  $\text{Ca}_7\text{MgSi}_4\text{O}_{16}$  e  $\text{Ca}_7\text{Si}_2\text{P}_2\text{O}_{16}$  scaffolds con grande dimensione dei pori e elevata interconnettività (vedi Figura 1.4), usando il metodo delle schiume poliuretaniche; tuttavia, il maggiore inconveniente di questo metodo è che gli scaffold non erano meccanicamente forti [32]. Per controllare meglio la morfologia dei pori, la loro dimensione e la porosità, è stata sviluppata la tecnica di stampa 3D per preparare scaffolds porosi di silicati. Il vantaggio enorme che presenta questa tecnica è che l'architettura può essere controllata con precisione [30] [32].

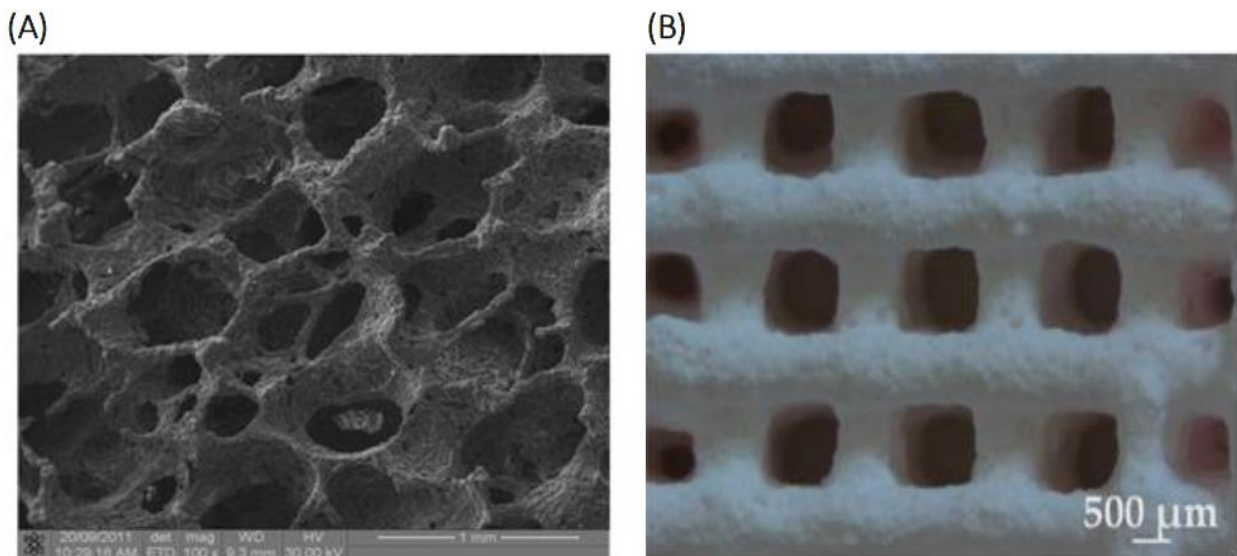


Figura 1.4. Scaffold di ceramiche silicatiche preparati con a) metodo della schiuma poliuretanica; b) tecnica di stampa 3D [30].

### 1.3.2 Proprietà meccaniche dei bioceramici silicatici

La maggior parte dei ceramici silicatici densi presenta una resistenza flessionale e un modulo elastico simile all'osso corticale umano. Tuttavia, la fragilità è lo svantaggio dei ceramici Ca-Si [27].

L'inserimento di elementi metallici, come Mg, Zn, Sr, nei bioceramici a base wollastonite, portano a cambiare la loro struttura cristallina, sviluppando nuovi bioceramici silicatici con minore e controllato tasso di dissoluzione e parimenti con maggiori proprietà meccaniche, come mostrato in Tabella 1.3.

Bioceramic	Bending strength (MPa)	Fracture toughness (MPam <sup>1/2</sup> )	Young's modulus (GPa)
Cortical bone	50 – 150	2 – 12	7 – 30
Cancellous bone	10 – 20	-	0.2 – 0.5
Hydroxyapatite	115 – 200	0.6 – 1	80 – 120
	110	1.1	47
	107.3	0.86	67
	115 – 120	1.0	80 – 110
	107.3 ± 4.3	0.86 ± 0.12	67 ± 3
CaSiO <sub>3</sub>	95	<1.0	-
CaSiO <sub>3</sub> , SPS sintering technique	294	2.0	46.5
Bredigite	156 ± 6	1.57 ± 0.12	43.00 ± 4.53
Diopside	300	3.5	170
Akermanite	176.2 ± 9.8	1.83 ± 0.10	42.0 ± 5.4
	141.8 ± 2.3	1.53 ± 0.10	56.2 ± 5.4
Monticellite	163.9 ± 3.6	1.65 ± 0.12	45.5 ± 4.1
	159.7	1.63	51
Merwinite	128.4 ± 4.7	1.57 ± 0.17	49.3 ± 2.3
	151.2 ± 5.7	1.72 ± 0.11	31 ± 2
Hardystonite	136.4	1.24	37
Strontium hardystonite	53	-	27

Tabella 1.3. Proprietà meccaniche dei bioceramici silicatici densi [30] [32] [33].

Il meccanismo con cui l'aggiunta di questi elementi potrebbe controllare le proprietà meccaniche dei silicati è dovuta al fatto che, quando vengono introdotti gli ossidi precursori (MgO, ZnO, SrO), il movimento degli atomi di calcio nella struttura è inibito e la struttura è resa più stabile. Inoltre, l'energia di legame X-O (in cui X=Mg<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup>) è più elevata rispetto a quella del legame Ca-O, che porta alla formazione di strutture più stabili [33]. È stato osservato che la maggiore stabilità della struttura potrebbe influenzare le proprietà meccaniche [34] [35].

La porosità ha un'importante influenza sulle proprietà meccaniche degli scaffold, come riportato in Tabella 1.4 [36]. Gli scaffold di diopside con una porosità del 75-80% mostrano una resistenza meccanica a compressione maggiore di quelli di idrossiapatite con porosità 69–86%, 45S5 biovetro con 82-89% e CaSiO<sub>3</sub> con 81% [37] [38] [39] [40]. La stabilità meccanica è un parametro chiave per scaffold bioattivi per far sì di mantenere sufficiente resistenza meccanica durante la loro degradazione. Dopo essere stati immersi nella soluzione SBF (*Simulated Body Fluid*) per 14 giorni, la resistenza a compressione degli scaffold di diopside è diminuita del 30%, confrontata con il 54% e il 60% del bioglass e della wollastonite [41].

Bioceramic	Porosity (%)	Compressive strength (MPa)
Cancellous bone	70 – 90	0.2– 4.0
Hydroxyapatite	69 – 86	0.03 – 0.29
45S5 Bioglass	82 – 89	0.42 – 0.6
	84 – 89	0.42 – 0.6
CaSiO <sub>3</sub>	90	0.03 ± 0.007
	81	0.33
	81	0.32 ± 0.11
Diopside	75 – 80	0.63 – 1.36
Akermanite	63.5 – 90.3	0.53 – 1.35
Hardystonite	87	0.06 ± 0.008
	78	1.99 ± 0.45
CaSiO <sub>3</sub> -hardystonite	89	0.12 ± 0.02
Strontium hardystonite	78	2.16 ± 0.52
Strontium-hardystonite-gahnite	85	0.8 – 4.1
	85	4.1 ± 3

Tabella 1.4. Proprietà meccaniche di scaffolds in materiale bioceramico silicatico [36].

In conclusione, i ceramici basati sul sistema Ca-Si possiedono bioattività, osteoconduttività, ma le loro proprietà meccaniche rimangono lontane dall'ottimale per la rigenerazione ossea. L'aggiunta di elementi è un approccio promettente per migliorare le loro proprietà meccaniche al fine di giungere ad applicazioni tissutali ossee.



# Capitolo 2

## Tecnologie di produzione

*Nel corso di questo capitolo, vengono presentate le tecnologie di produzione di materiali ceramici che hanno reso possibile lo svolgimento di questa tesi. I materiali utilizzati sono adatti alla stampa 3D, in particolare a due diverse tecniche di stampa 3D, che saranno presentate: la DIW (Direct Ink Writing) e la DLP (Digital Light Processing). Per la prima, la formazione del bioceramico si deve al processo PDC, ovvero il Polymer-Derived Ceramics (PDC), che in questo caso sarà in particolare riferito ai bioceramici silicatici; si parlerà dunque di Polymer-Derived Silicates (PDS). Questa tecnica ci permette di realizzare scaffolds e schiume ed in particolare, per i primi, ci permette di adottare come metodi di formatura quelli tipici dei materiali polimerici, ovvero tutte le tecniche di Additive Manufacturing. Per la DLP, invece, si sfrutterà il fenomeno della sinter-cristallizzazione del vetro.*

### 2.1 Direct Ink Writing (DIW)

La *Direct Ink Writing* (DIW) è una tra le tecnologie di *Additive Manufacturing* (AM) dirette, ovvero dove il materiale viene depositato solo nella posizione che dà la forma finale desiderata all'oggetto. Essa consiste nella diretta deposizione di pasta ceramica ed è la tecnologia di AM più usata per realizzare strutture porose: si basa sull'estrusione di un filamento di pasta ceramica viscosa attraverso un ugello. Il controllo delle proprietà reologiche del filamento è essenziale per evitare la deformazione della parte dopo l'estrusione e l'incurvatura del filamento, specie in strutture porose. Una sospensione ceramica cambia il suo comportamento da pseudoplastico a dilatante, quando viene estrusa in aria a causa di una lieve essiccazione della pasta. Il comportamento reologico dell'inchiostro è il seguente: quando è sottoposto a uno sforzo e deve attraversare l'apertura dell'ugello è un gel viscoso, ma appena viene estruso la viscosità diminuisce di diversi ordini di grandezza; successivamente la viscosità aumenta leggermente così da evitare la deformazione del filamento [42]. Il verde dopo essiccazione, ha già un'alta densità, che permette di raggiungere una quasi completa densificazione dopo sinterizzazione. Gli *scaffolds* prodotti con DIW hanno migliori proprietà meccaniche



rispetto a quelli prodotti con tecnologie basate sulla stampa di polveri. Anche in questo caso si possono ottenere strutture sia porose che dense.

La formazione del bioceramico, in seguito alla formatura per DIW, origina dal processo PDC, che sarà descritto nel prossimo paragrafo.

## 2.2 La tecnologia PDC

Il termine PDC, *polymer-derived ceramics* o ceramici derivati da polimeri preceramici, si riferisce ad un processo di sintesi per la fabbricazione di materiali silicatici attraverso la pirolisi controllata di precursori polimerici. Questa metodologia ha acquisito notevole interesse negli ultimi decenni a causa di una serie di vantaggi connessi con l'uso di polimeri preceramici. Quest'ultimi, in particolare sotto la forma di composti di silicio organico (polimeri aventi come base una catena di atomi di Si legato a C, O, N, B e atomi di H), sono stati ampiamente riconosciuti come uno strumento estremamente potente per la produzione di ceramici avanzati.

Il loro vantaggio chiave è che, rispetto alle convenzionali procedure di sintesi (la tecnologia delle polveri, metodo tradizionale per la preparazione di ceramici che richiede tuttavia l'aggiunta di additivi di sinterizzazione e vincola significativamente le applicazioni tecniche), vi è la possibilità di adottare le tecniche tradizionali di formatura della plastica (filatura, schiumatura, pressatura a caldo, estrusione, stampaggio a iniezione) per andare a generare componenti opportunamente sagomati [43]. Altri vantaggi importanti sono la grande varietà e disponibilità di precursori, il loro basso costo e la loro facile manipolazione, oltre alle temperature relativamente basse di sintesi.

Questi polimeri, mediante il trattamento termico sopra ~800 °C (pirolisi), tipicamente in un'atmosfera non ossidante (azoto o argon) verranno successivamente trasformati nei prodotti ceramici desiderati, solitamente definiti come *polymer-derived ceramics* o PDCs, ma che nel caso di studio in esame troveranno una miglior definizione in PDS, ovvero *polymer-derived silicates*, in quanto l'aggiunta delle cariche presenti (*fillers*) porta alla formazione di silicati. L'eliminazione delle componenti organiche durante la pirolisi, che prende avvio dalla rottura dei legami C-H con rilascio di H<sub>2</sub> e CH<sub>4</sub> o altre componenti volatili, porta alla formazione del materiale inorganico. Il materiale ceramico prende forma da una complessa evoluzione microstrutturale, che dipende dalla "storia" termica e dalla temperatura finale del trattamento, che porta a fasi cristalline nanometriche immerse in una matrice amorfa priva di carbonio [44].

Tali ceramici presentano solitamente una composizione chimica non ottenibile con altre tecniche. I PDC mostrano in generale migliorate proprietà termo-meccaniche per quanto riguarda il *creep* e l'ossidazione, la cristallizzazione o la separazione di fase fino a

1500 °C. Inoltre il loro processo di sintesi richiede un minor consumo di energia, con una temperatura di trattamento relativamente bassa di 1000÷1300 °C, in confronto con la tecnologia convenzionale delle polveri che richiede fino a 1700÷2000 °C per sinterizzare ceramici covalenti a base di Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub> o SiC.

Oltre alle applicazioni come materiali resistenti alle alte temperature (materiali per l'industria energetica, automobilistica, aerospaziale, etc), altri settori dell'ingegneria sono adatti allo sfruttamento della tecnologia PDC, compresi il settore *hard materials*, l'ingegneria chimica, l'ingegneria elettrica e la micro/nanoelettronica [45].

## 2.3 I polimeri preceramici

La struttura molecolare e il tipo di polimero preceramico influenza non solo la composizione ma anche il numero e la distribuzione delle fasi del ceramico finale prodotto. Dunque, le proprietà macroscopiche, chimiche e fisiche, dei PDCs possono essere variate e aggiustate dalla scelta del precursore molecolare. Quindi, la sintesi del polimero preceramico è uno degli indizi chiave nel campo dei PDCs [44].

Esso può essere rappresentato dalla seguente formula generale (Figura 2.1):

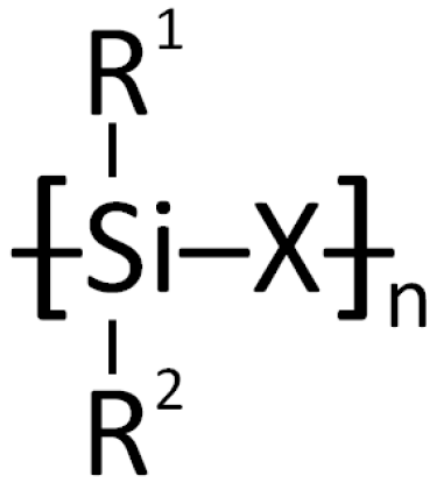


Figura 2.1. Formula generale semplificata per un polimero preceramico a base di Si [44].

La struttura principale è costituita da atomi di Si legati ad un gruppo X generico, che è il parametro più importante per modificare il composto preceramico e che determina la classe del polimero finale. Per quanto concerne questo lavoro di tesi si considerano i polisilossani, dove il gruppo X è l'O.

I gruppi  $R^1$  e  $R^2$ , invece, possono essere modificati per modulare la stabilità termica e chimica, così come la solubilità del polimero, le proprietà elettroniche, ottiche e reologiche. Questi gruppi funzionali laterali sono generalmente contenenti C, H, gruppi aromatici, gruppi alifatici. Solubilità, stabilità termica e viscosità in funzione della temperatura sono caratteristiche importanti per la lavorazione dei polimeri. Inoltre, per ottenere la formatura del polimero attraverso reazioni di reticolazione (prima della fase della pirolisi), sono necessari gruppi funzionali adatti.

Combinando diversi gruppi X,  $R^1$  e  $R^2$  sono realizzabili una vasta gamma di possibili composizioni polimeriche. Di conseguenza i ceramici che ne derivano avranno proprietà fisiche e chimiche macroscopiche variate e regolate enormemente dalla struttura del precursore molecolare.

In Figura 2.2 è riportata la rappresentazione grafica dei polimeri preceramici a base di Si, anche se non tutte queste classi sono diffuse o prodotte industrialmente. Ciò è dovuto principalmente al fatto che, oltre alle proprietà e prestazioni dei ceramici finali, vi sono anche altri fattori che influenzano la scelta di un polimero preceramico. Il parametro più importante da considerare, soprattutto dal punto di vista industriale, è il costo dei precursori, ma anche il trattamento specifico che ogni precursore richiede è rilevante ed è influenzato dalla sua durata chimica, dalla stabilità termica, dalla tossicità e dalla reattività nei confronti dell'atmosfera utilizzata o di altre sostanze.

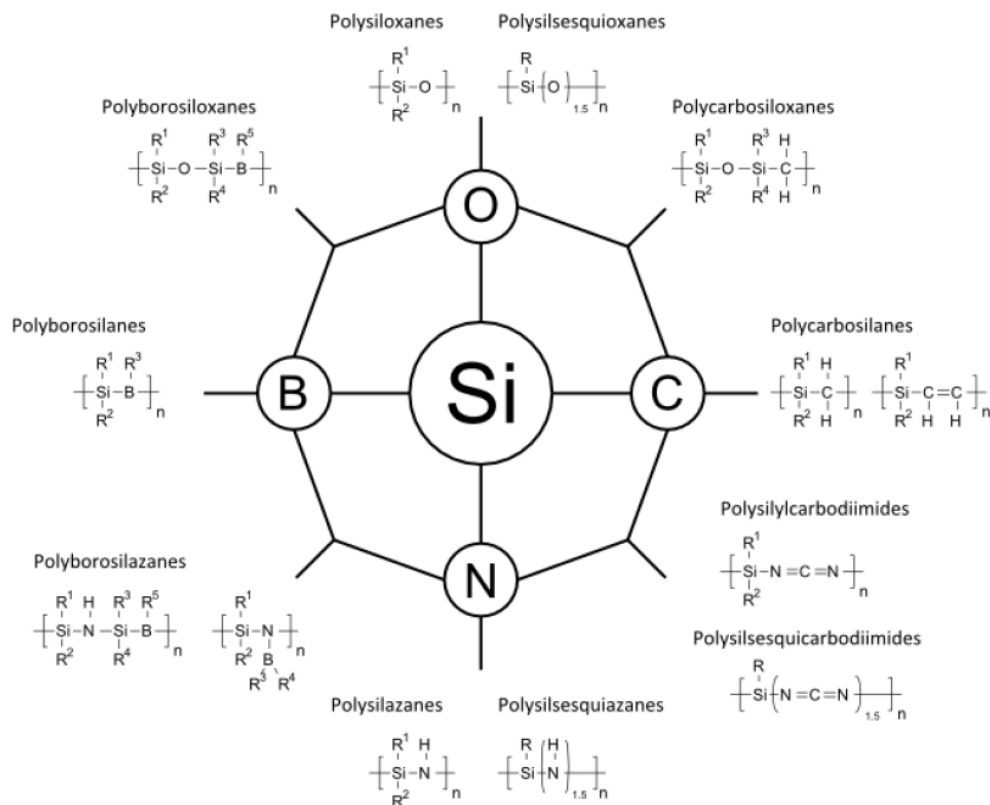


Figura 2.2. Principali classi di polimeri preceramici Si-based nel sistema Si-O-C-N-B [44].

Tra tutte le classi di polimeri preceramici la più studiata è la classe dei *polisilossani*, poiché sono poco costosi, non tossici e aventi elevata stabilità termochimica. Possono presentarsi come liquidi o solidi: se solidi, possono essere sciolti in diversi solventi organici o possono essere fusi a basse temperature (<150 °C) [44] [45].

Sono venduti e denominati come siliconi e sono inodore, incolore, resistenti all'acqua, stabili alle alte temperature e isolanti elettricamente. Grazie alla loro estremamente bassa reattività e alla loro atossicità, hanno applicazioni biomediche, come nelle protesi mammarie, oppure possono essere utilizzati nel settore dei prodotti per la cura della persona o come additivi alimentari.

In un'atmosfera non ossidante, la pirolisi di polisilossani forma un residuo amorfo di ossicarburo di silicio, costituito da legami Si-O e Si-C, impossibile da ottenere con tecniche di lavorazione più tradizionali. La presenza di entrambi i legami covalenti è la base per tutte le proprietà distintive dei PDCs, come la maggiore stabilità termica e al creep, all'ossidazione e la resistenza alla corrosione. Essi sono neri in aspetto a causa del residuo "libero" di C presente all'interno del materiale. Invece, se la pirolisi è condotta in atmosfera ossidante, cioè in aria, il C sarà ossidato a CO<sub>2</sub>; il residuo derivante sarà di colore tipicamente bianco, diversamente dal caso precedente [45].

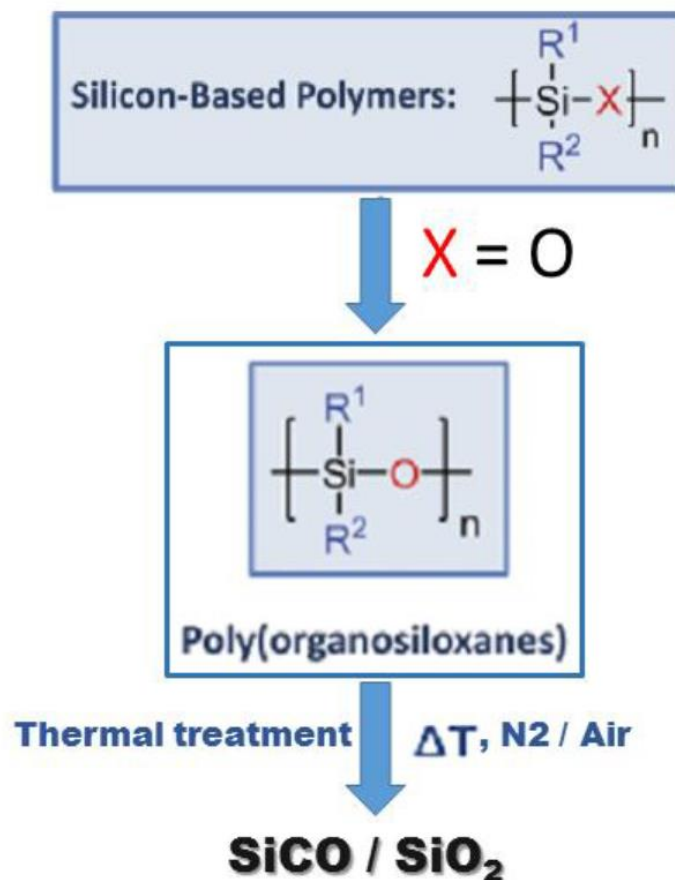
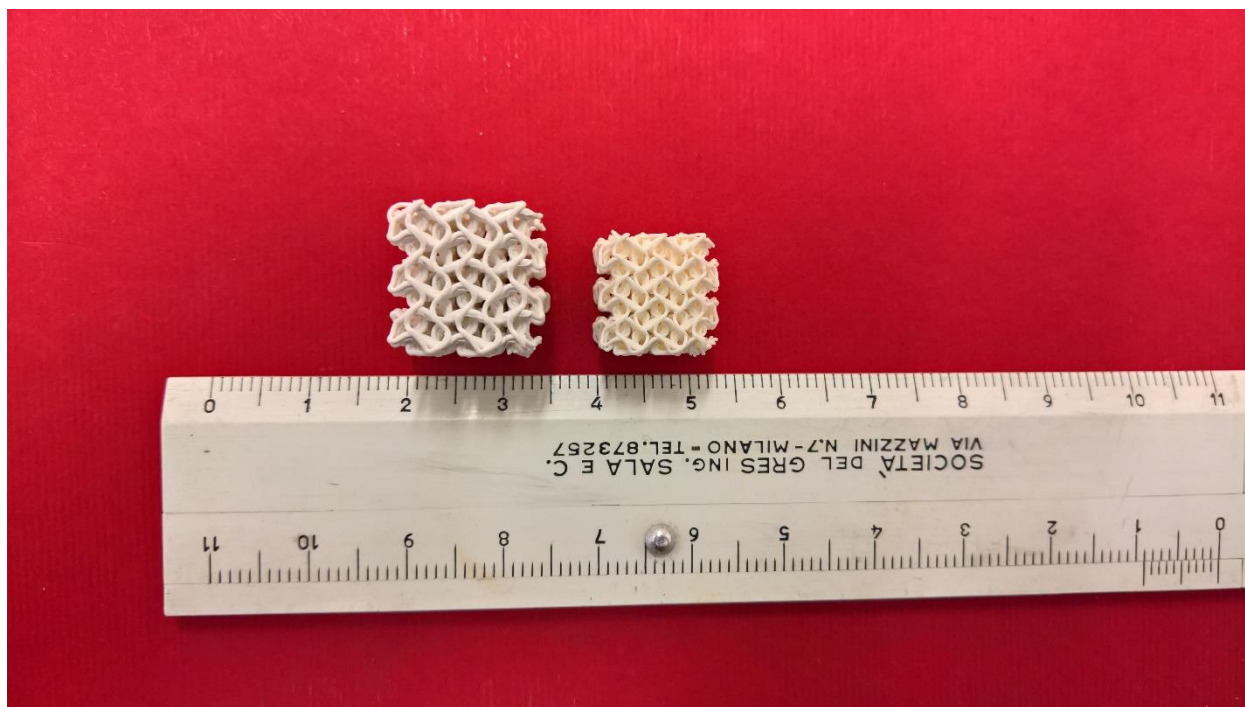


Figura 2.3. Rappresentazione della decomposizione termica dei polimeri a base siliconica (Polisilossani) [44].

Il materiale trattato in questa Tesi, subisce un trattamento termico svolto in atmosfera ossidante: in Figura 2.4 si può osservare lo stesso campione prima e dopo trattamento termico, tipicamente di colore biancastro.



*Figura 2.4. Scaffold prima (a sinistra) e dopo (a destra) il trattamento termico. Si può osservare il ritiro geometrico, in questo caso di circa il 20%.*

Il polimero preceramico che è stato utilizzato per questo lavoro di Tesi è il seguente:

- **Silres® MK**, prodotto dalla *Wacker-Chemie GmbH* a Monaco, in Germania. Si tratta di un metil-polisilsesquiossano in forma di polvere ad alto grado di reticolazione. Dal foglio tecnico fornito si apprende che la  $T_g$  va da 35 °C a 55 °C e la densità di bulk vale 0,5 g/cm<sup>3</sup>. Presenta ottima resistenza termica fino ai 300 °C unitamente ad un'alta reattività, qualità che lo rende adatto a produrre pre-impregnati di eccellente stabilità. Possiede un elevato tenore in SiO<sub>2</sub> ed ha anche un'alta resa ceramica, pari all'84 %wt sia in aria, sia in atmosfera inerte. Le altre proprietà del silicone MK sono la forza di legame, la ridotta evoluzione in fumi durante la pirolisi e la solubilità in solventi aromatici, chetoni, paraffine e idrocarburi clorurati che lo rendono molto adatto alla miscelazione con *fillers* di vario genere. Sopra i 350 °C questo silicone va incontro ad una degradazione ossidativa che porta alla formazione di SiO<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub> e H<sub>2</sub>O senza formazione di ceneri [46].

### 2.3.1 Formatura e reticolazione

I polimeri preceramici possono essere sottoposti a diverse tecnologie di formatura, alcune di queste unicamente rivolte ai polimeri, altre dedicate preferibilmente a materiali polimerici anziché polveri o paste ceramiche. Un vantaggio nell'usare polimeri preceramici, durante la formatura di componenti che subiranno la trasformazione in ceramici, consiste nell'evitare i problemi connessi alle operazioni di finitura di materiali ceramici, quali usura di utensili e frattura fragile [47]. Un altro vantaggio dei polimeri è che rendono la manipolazione pretrattamento termico dei componenti formati più semplice, grazie alla loro capacità di tenere unite le varie parti già a bassa temperatura [48]. La possibilità di creare nanostrutture (fili, tubi, ecc.) direttamente durante pirolisi, è unica di questi materiali [49], come la formazione di una grande quantità di porosità durante la conversione polimero-ceramico, utilizzata per realizzare materiali adsorbenti [50].

Un requisito fondamentale del componente, dopo formatura, è quello di riuscire a mantenere la forma durante il processo di trasformazione in ceramico. Per questo motivo vengono incorporati dei gruppi funzionali necessari alla reticolazione, che può avvenire sotto i 200 °C. La temperatura di reticolazione può essere abbassata utilizzando dei catalizzatori, così che possa avvenire già durante il processo di formatura, andando però ad influenzare il comportamento reologico del polimero [51]. Quando viene utilizzata una grande quantità di *fillers*, insieme al polimero preceramico, la reticolazione non è più necessaria, perché gli additivi solidi spesso offrono supporto sufficiente (limitando il flusso viscoso), alla matrice polimerica, al mantenimento della forma durante trattamento termico. L'introduzione di *fillers* influenza notevolmente, infatti, la reologia del polimero preceramico [52].

Durante la fase di cura, può avvenire il rilascio di sottoprodotti gassosi, a seconda del meccanismo di reticolazione e dei *fillers* attivi presenti in miscela. La conseguenza di questo rilascio di gas è la generazione di bolle che possono rimanerenintrappolate all'interno del mezzo polimerico: questo fenomeno è sfruttato per la produzione di corpi porosi da processi auto-espandenti (es. schiume cellulari), o può essere dannoso se è desiderato un ceramico denso privo di pori.

### 2.3.2 L'aggiunta di *fillers*

La conversione da polimero a ceramico è una fase cruciale di tutta la lavorazione dei polimeri preceramici, effettuata molto spesso sopra ai 400 °C, in atmosfera selezionata (inerte o reattiva, ossidante o non ossidante).

Un inconveniente caratteristico della tecnologia PDC è lo scarso controllo di ritiro e integrità strutturale dei prodotti della trasformazione. Essa implica l'eliminazione delle frazioni organiche tipiche di un polimero con significativo rilascio di gas (in forma di metano, benzene, idrogeno) e conseguente ritiro volumetrico isotropico (20-30 %, ritiro lineare) e formazione di macro e microporosità. Ciò porta alla creazione di stress interni, con la possibilità di avere difetti come cricche e pori, rendendo la diretta trasformazione da polimero preceramico a ceramico denso di fatto impossibile [44].

Questi difetti derivano dal fatto che, durante la pirolisi, tutte le tensioni legate al ritiro, al rilascio dei prodotti gassosi e ai riarrangiamenti strutturali non possono essere alleggeriti dal flusso viscoso o da altri meccanismi.

È stato dimostrato che *fillers* di diversa natura possono essere aggiunti ai polimeri preceramici prima della formatura, con più scopi ed effetti: possono essere di varia natura (polimerica, metallica, ceramica), forma (particelle equiassiche, grani allungati, *whiskers*, piastrine, nanotubi, fibre) e dimensione (da nanoparticelle a fibre di diversi centimetri).

Il contenuto di *fillers* introdotti è un'altra variabile: essi possono essere aggiunti in piccole quantità o possono anche costituire la maggioranza del volume (in questo caso il precursore polimerico agisce come legante) permettendo di ottenere alte densità. In ogni caso, l'introduzione di cariche modifica le proprietà finali del componente ceramico, che diventa, in pratica, un materiale composito costituito da una fase derivata dalla pirolisi del polimero preceramico ed una o più fasi secondarie collegate all'incorporazione delle cariche stesse [45].

Esistono due tipi di *fillers*:

- **Fillers passivi:** detti anche inerti, sono polveri ceramiche che non reagiscono con il residuo ceramico proveniente dal polimero, con i gas di decomposizione o con l'atmosfera. Tali riempitivi diluiscono semplicemente il polimero preceramico, andando quindi a diminuire la quantità di gas generato e il ritiro volumetrico associato, riducendo la probabilità di formare cricche macroscopiche durante la lavorazione [43]. Tipici esempi di cariche passive sono polveri di SiC o Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>, ma anche Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, B<sub>4</sub>C e BN.

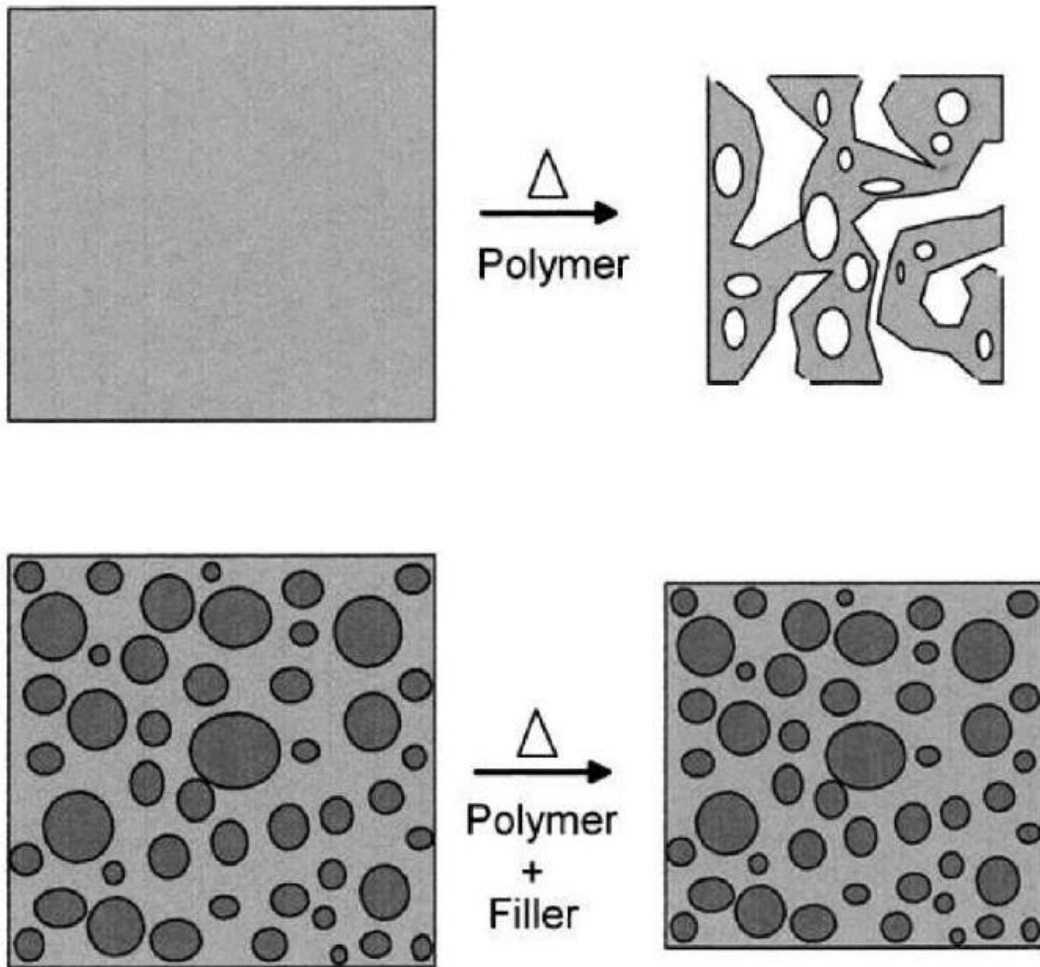


Figura 2.5. Riduzione del ritiro di un componente bulk prodotto tramite tecnica PDC's con l'aggiunta di un filler passivo [45].

- **Fillers attivi:** questi reagiscono, durante la pirolisi, con i gas di decomposizione generati durante il riscaldamento, con l'atmosfera o con il residuo ceramico del polimero preceramico. Prodotti tipici delle reazioni chimiche sono carbonati, nitrati e ossidi, che vanno a ridurre il ritiro volumetrico. Si è osservato che particelle di piccole dimensioni reagiscono più velocemente, garantendo quindi una contrazione volumetrica inferiore durante trattamento termico. La quantità di *filler* aggiunta può variare da piccole percentuali fino a divenire il componente principale, in quest'ultimo caso il polimero preceramico assume il ruolo di legante.



## 2.4 Conversione da polimero a ceramico

Questa fase è probabilmente la più importante dell'intero processo di trasformazione dei polimeri preceramici ed è il risultato della decomposizione termica che avviene al di sopra di circa 400 °C. Quando il polimero preceramico viene riscaldato a temperature sempre più elevate, il polimero inizia a decomporsi e vengono rilasciati gruppi organici (gruppi metili, fenili, vinili) e gruppi Si-H, Si-OH, Si-NH<sub>x</sub> [53].

### 2.4.1 Conversione in aria

Il tipo di atmosfera in cui viene condotto il trattamento termico, modifica la composizione del ceramico risultante: l'ossigeno contenuto nell'aria porta all'eliminazione del carbonio presente nel materiale [54] con formazione di CO<sub>2</sub>. Anche la velocità di riscaldamento influenza la composizione e la resa ceramica (se il tempo dato per la reticolazione, durante il riscaldamento, è insufficiente, oligomeri vengono rilasciati e la resa ceramica diminuisce). Inoltre la velocità di riscaldamento influisce sulla formazione di cricche dovute al rilascio di gas. Per alcune applicazioni in cui è richiesta una grande quantità di macro e micro porosità oppure un processo *net-shape*, non è necessario portare la trasformazione polimero-ceramico a completezza [55].

I PDCs possono essere amorfi sopra i 1000-1800 °C, ciò è principalmente dovuto alla struttura molecolare e alla composizione del precursore usato. A temperature elevate, inizia il processo di devettrificazione del reticolo amorfo iniziale, con la cristallizzazione localizzata di diverse fasi. La ridistribuzione dei legami chimici porta alla separazione di fase e infine alla nucleazione e crescita di nanocristalli. Inoltre, in molti casi, la decomposizione è seguita dalla separazione di fase e dalla cristallizzazione con rilascio di prodotti gassosi come CO, SiO, N<sub>2</sub> e altri [44].

Il grado di conversione viene valutato secondo un parametro chiamato "resa ceramica", definito come il rapporto tra la massa iniziale del precursore e la massa del residuo finale dopo trattamento. Esso dipende dalla natura del precursore polimerico: polimeri caratterizzati da un basso peso molecolare o dalla presenza di oligomeri lungo la catena hanno rese ceramiche più basse; questo a causa di reazioni di depolimerizzazione e fenomeni di volatilizzazione.

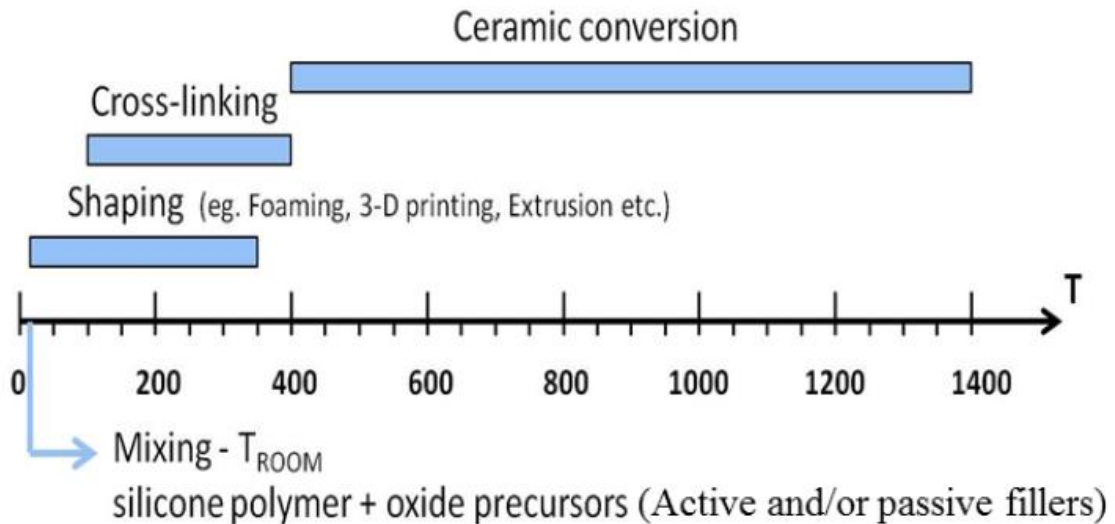


Figura 2.6. Fasi del processo PDC che portano alla formazione del ceramico finale e temperature standard operative [44].

## 2.4.2 Conversione in atmosfera inerte

La conversione di polimero preceramico in atmosfera inerte ci si aspetta porti alla formazione di SiOC, invece di SiO<sub>2</sub>. SiOC consiste in silice vetrosa con legami Si-C all'interno del reticolo silossanico, mescolati a *nano-sheets* stratificati di carbonio [56] [57]. L'evoluzione microstrutturale dei PDCs dallo stato amorfo a quello parzialmente cristallino, viene schematizzata nei seguenti step:

- tutto il materiale subisce un processo di separazione di fase;
- la fase di carbonio libero è soggetta a grafitizzazione;
- con l'aumento della temperatura, si ha la formazione locale di nanocristalli.

Il carbonio libero è definito come la quantità di carbonio non legata al silicio nel ceramico. A basse temperature il carbonio rimane omogeneamente disperso nel materiale amorfo (come in soluzione solida). Sopra i 1000 °C il carbonio forma regioni di grafite stratificata distribuite nel reticolo vetroso. Tra i 1000 °C e i 1200 °C il ceramico SiOC presenta una distribuzione atomica completamente omogenea. Sopra i 1200 °C si ha la decomposizione in silice, carburo di silicio e carbonio. Si possono ottenere composti come SiCN e SiOC grazie al forte legame tra silicio e carbonio nel polimero, che evita la volatilizzazione del carbonio sotto forma di piccole molecole di idrocarburo durante il trattamento termico in atmosfera inerte [58] [59].

La fase carboniosa nella forma di grafene o nanotubi [60] [61] [62], generalmente aumenta le proprietà meccaniche.

Confrontando due campioni formati dallo stesso polimero preceramico silicico, a cui vengono aggiunti *fillers*, successivamente trattati termicamente in diverse atmosfere, si osserva che quello trattato in azoto è meno criccato di quello trattato in aria. Ciò è dovuto al fatto che il trattamento in aria implica la completa rimozione del carbonio: alcune cricche possono essere dovute all'ossidazione dei gruppi Si-CH<sub>3</sub> del silicone [63]. Nel campione trattato in azoto si osserva una quantità relativamente abbondante di fase amorfa. La resa ceramica di un polimero preceramico è la stessa, sia in aria sia in azoto, ma il residuo ceramico che si forma in azoto (SiOC) è diverso da quello in aria (SiO<sub>2</sub>).

## 2.5 Digital Light Processing (DLP)

La *Digital Light Processing* (DLP) è una delle tecnologie di AM indirette, facente parte del più grande insieme della stereolitografia (SL): prima viene depositato uno strato di materiale, successivamente la sezione trasversale della parte è inscritta nello strato e, dopo aver completato tutti gli strati, il materiale d'eccesso che circonda la parte viene rimosso. La tecnica di realizzazione del componente avviene *layer-by-layer* basata sulla fotopolimerizzazione di una resina liquida riempita di particelle ceramiche. Nella soluzione di partenza sono presenti il monomero, il fotoiniziatore e additivi per aiutare la dispersione delle polveri ceramiche, presenti al 40-60 %wt [64] [65]. La resina fotosensibile viene polimerizzata grazie all'esposizione di ogni strato a raggi UV. Nel caso della stereolitografia un laser UV scorre l'area da stampare e polimerizza gli oligomeri liquidi, mentre la tecnologia a luce digitale (DLP) si avvale di un proiettore che illumina tutta l'area ogni volta [66]. A differenza delle altre tecnologie a base di polvere, in questa a circondare la parte è il materiale liquido, che non è quindi in grado di dare alcun supporto, da cui viene rimosso al completamento [67]. È necessario utilizzare polveri ceramiche molto sottili per la stampa stereolitografica, di conseguenza l'oggetto ottenuto dopo trattamento termico avrà densità alte [64]. Anche con questa tecnologia è possibile ottenere strutture sia porose che dense.

## 2.6 La sinter-cristallizzazione

*Scaffold* vetroceramici a base di wollastonite e diopside, vengono prodotti grazie alla tecnica DLP, a cui segue la sinter-cristallizzazione della polvere di vetro.

La polvere di vetro infatti deve sinterizzare ma non solo, deve anche mantenere la forma, perché si vuole rimediare al collasso determinato dal flusso viscoso. Il processo utilizzato

dipende dal bilanciamento tra sinterizzazione per flusso viscoso e cristallizzazione delle particelle di vetro, a sua volta influenzato dalla dimensione della polvere e dalla sensibilità alla nucleazione del vetro CaO-MgO-SiO<sub>2</sub> [68].

Per la stampa stereolitografica, la polvere di vetro viene miscelata con una resina acrilica fotosensibile. Durante il trattamento termico avviene la combustione degli additivi organici (mantenendo la temperatura a 500 °C per 3 ore) e solo successivamente la sinterizzazione. Il controllo del flusso viscoso della polvere di vetro è essenziale per il mantenimento della forma in componenti molto porosi; per questo è fondamentale trovare il giusto compromesso tra la densificazione e la stabilizzazione della struttura [68], agendo sulla temperatura di trattamento, sulla velocità di cristallizzazione e sulla dimensione della polvere. Un ottimo bilanciamento tra densificazione e cristallizzazione è ottenibile, generalmente, solo se il picco di cristallizzazione è collocato ad una temperatura opportunamente più alta di quella relativa al punto di rammollimento [69], ovvero la temperatura a cui il flusso viscoso diventa apprezzabile [70]. Se la differenza tra queste due temperature è limitata, le particelle di vetro adiacenti possono sviluppare solo il collo di sinterizzazione, portando alla formazione di una grande quantità di porosità residua interconnessa [69].

Dalle analisi termiche si osserva che, al diminuire della dimensione della polvere, i picchi di cristallizzazione esotermici appaiono più pronunciati e a temperature più basse. Dalle curve DTA e dilatometriche è possibile fare una previsione del comportamento della polvere di vetro durante trattamento termico e dei risultati ottenibili. Si prendono in esame due vetri (WDP e WDE) aventi temperatura di cristallizzazione equivalente, ma diversa finestra di sinter-cristallizzazione [69]: WDE ha temperatura di rammollimento più alta di WDP e ha dunque una finestra più stretta. La finestra di sinter-cristallizzazione influenza il bilanciamento tra flusso viscoso (considerato significativo a una temperatura di 50-100 °C sopra il punto di rammollimento dilatometrico [70] e cristallizzazione. Nel caso di una finestra larga (WDP) il materiale tende a rimanere amorfo, poiché la temperatura di trattamento è sufficientemente alta rispetto a quella di rammollimento, ma troppo distante da quella di cristallizzazione. Nel caso di una finestra più stretta (WDE) è invece possibile scegliere una temperatura di trattamento tale da assicurare un flusso viscoso non eccessivo e la contemporanea cristallizzazione del materiale.

In base alla diversa temperatura di rammollimento dei due vetri, WDP viene trattato ad una temperatura minore di WDE, tale da non portare ad una deformazione eccessiva della forma; infatti se trattato a temperatura maggiore, la struttura collassa a causa del flusso viscoso troppo elevato. Invece WDE può essere trattato a temperature più elevate senza deformazioni geometriche, grazie alla formazione di cristalli che impediscono il collasso della struttura. In conclusione, l'accoppiamento di sinter-cristallizzazione con l'AM può essere regolato a diversi livelli (composizione, dimensione delle polveri e tecnica di stampa) così da ottenere un ampio range di proprietà diverse [68].

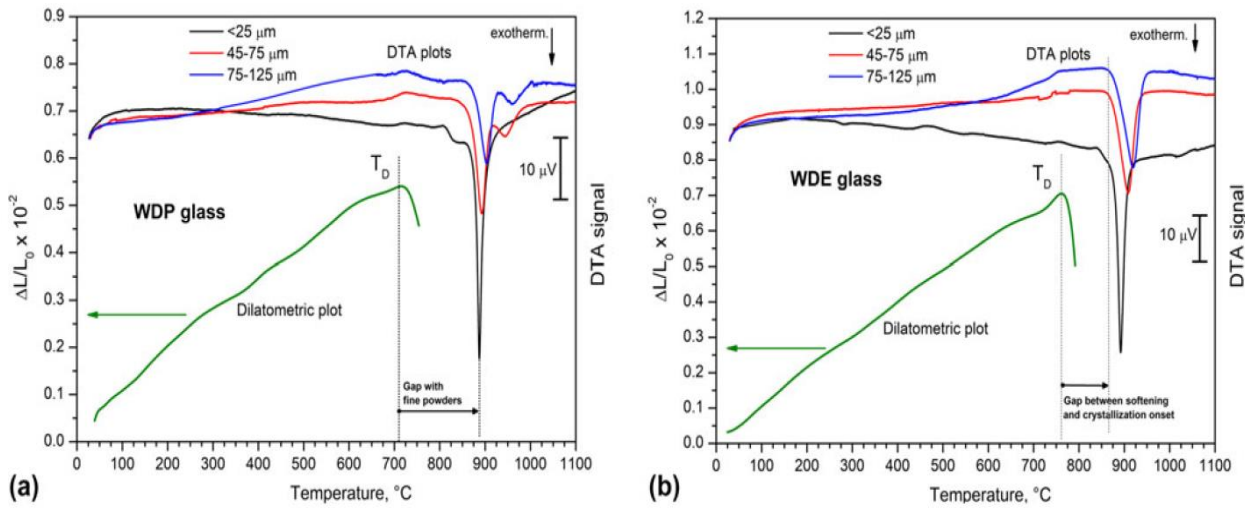


Figura 2.7. Valutazione della finestra di sinter-cristallizzazione dal confronto del grafico dilatometrico e delle curve DTA dei vetri WDP (a) e WDE (b) [68].

# Capitolo 3

## I solidi cellulari

*In questo capitolo si vanno a descrivere le strutture che sono ad oggi in fase di studio e di prima applicazione per scopi biomedicali. Si parla di strutture cellulari, in particolare nel nostro caso parleremo di scaffolds (che letteralmente significa impalcatura, ponteggio) ceramici, perché esse devono necessariamente disporre di una porosità aperta e interconnessa per la vascolarizzazione e la proliferazione delle cellule appartenenti al tessuto in cui verrà impiantato lo scaffold stesso. L'Additive Manufacturing ha significativamente migliorato la possibilità di personalizzare l'architettura delle strutture cellulari e questo ha portato a sviluppare design innovativi per capire la correlazione tra caratteristiche topologiche degli scaffold e le loro proprietà, intese sia come meccaniche che biologiche, spesso in conflitto tra loro e dove quindi è necessario trovare una soluzione di compromesso per raggiungere le caratteristiche ricercate.*

### 3.1 Introduzione

Le strutture cellulari si trovano numerose in natura [71] perché la loro architettura permette un'efficiente ottimizzazione di importanti caratteristiche ingegneristiche, come il rapporto resistenza/densità e rigidità/densità. In particolare i ceramici cellulari offrono durabilità in ambienti aggressivi insieme a presentare caratteristiche volumetriche e superficiali che permettono di soddisfare esigenze specifiche, per esempio il filtraggio ad alta temperatura. Inoltre, essi estendono il *range* di proprietà dei materiali ceramici che sono disponibili all'ingegneria [72] dato che possiedono una combinazione piuttosto unica di caratteristiche.

I ceramici cellulari possono essere prodotti con una grande varietà di morfologie e strutture interne; ad esempio, possono essere formati come schiume, *honeycombs*, *scaffolds* (filamenti connessi) ecc. [73]. Naturalmente il processo manifatturiero adottato influenza la microstruttura e la morfologia, risultando in diverse proprietà in relazione alla struttura considerata. Quindi la scelta del miglior materiale per le applicazioni che si presentano dipende da molti parametri correlati, come la micro e la macro-struttura, le proprietà complessive, il costo del componente.

## 3.2 Struttura

L'unità strutturale di base di un ceramico cellulare è una "cella", che è uno spazio vuoto chiuso da facce e spigoli, mentre la macrostruttura del ceramico poroso deriva dalla disposizione tridimensionale nello spazio di queste celle poliedriche. Il grado di efficienza nel riempimento dello spazio dipende molto dalla geometria della cella stessa.

Per descrivere accuratamente la complessità di un ceramico cellulare, sono necessari numerosi parametri, come la dimensione media della cella e la distribuzione delle celle; lo spessore medio del filamento e la sua distribuzione; la forma e la morfologia del filamento; il diametro dei pori che interconnettono le celle; il grado di anisotropia, ovvero possiamo avere materiali che hanno un gradiente di porosità; il volume totale di porosità, altresì identificato come la densità relativa.

La IUPAC (*International Union of Pure and Applied Chemistry*) classifica le dimensioni dei pori in tre categorie dimensionali: *micropori* (<2 nm), *mesopori* (2-50 nm) e *macropori* (>50 nm). Secondo questa definizione, tutti i ceramici cellulari sono costituiti da macropori. In letteratura tecnica, quindi, si distingue tra schiume macrocellulari e microcellulari, le ultime aventi celle con dimensione inferiore a 50 µm e una densità cellulare (numero di celle per unità di volume) maggiore di 10<sup>9</sup> celle/cm<sup>3</sup> [74].

È importante osservare che la macro e micro-struttura di un ceramico cellulare influenza le sue performance e proprietà: ad esempio la presenza di pareti nella cella modifica sia la permeabilità che la resistenza, lo spessore dei filamenti influenza le proprietà meccaniche, la dimensione della cella e del filamento determinano l'incidenza delle concentrazioni di sforzo, mentre la purezza di composizione ha effetti sulla resistenza chimica e all'ossidazione, tanto quando sul *creep* ad elevata temperatura, conduttività elettrica e proprietà termiche.

Una porosità gerarchica (micro-, meso-, macro-porosità) può essere ottenuta in un ceramico cellulare per modificare e migliorare le sue proprietà.

### 3.2.1 *Scaffolds* e schiume per applicazioni biomedicali

La grande porosità dei ceramici cellulari favorisce l'adesione delle cellule e la proliferazione, nelle applicazioni tissutali. Ci sono molte microstrutture o architetture di *scaffolds* che sono state realizzate per l'ingegneria tissutale al fine di produrre ceramici ad elevata porosità. Queste possono essere divise principalmente in due classi: architetture a porosità *random* o a porosità progettata.

Pori con architettura *random* sono articolati in una struttura che non ha un ordine spaziale, né segue un determinato modello di distribuzione regolare della porosità; la dimensione

e la forma dei pori mostra una significativa variazione attorno ai valori medi. Queste strutture sono generalmente chiamate *schiume ceramiche* [75] [76]. Sebbene sia possibile controllare qualche aspetto della struttura della schiuma (dimensione media della cella e spessore medio delle pareti, queste caratteristiche sono *random* su scala locale. Un maggiore controllo della porosità per i ceramici porosi viene raggiunto realizzando *scaffolds* con varie tecniche di manifattura additiva, tra cui la stampa 3D. i requisiti fondamentali per uno *scaffold* sono alta compatibilità con i tessuti cellulari, non tossicità, capacità di promuovere la proliferazione e la differenziazione delle cellule e proprietà meccaniche simili a quelle del tessuto su cui è montato l'impianto [77] [78] [79]. Quando ci riferiamo agli *scaffolds*, che diversamente dalle schiume hanno il pregio di avere una porosità controllata e non una dimensione dei pori con distribuzione *random*, la porosità, che varia dal 40% al 90%, favorisce l'osteointegrazione e promuove l'adesione dell'impianto [80]. Inoltre, una superficie porosa rafforza il collegamento meccanico tra lo scaffold e il tessuto ospitante. La dimensione media dei pori dello scaffold controlla l'adesione cellulare, il trasporto di cellule, la formazione di tessuto, il trasporto di nutrienti [81]. Hulbert definì una dimensione minima di porosità per uno scaffold di 100  $\mu\text{m}$  [82]. Inoltre i pori devono essere interconnessi; l'interconnessione avrà una dimensione minore della dimensione dei pori veri e propri ma deve essere sufficiente per permettere la migrazione di cellule e la loro comunicazione. È risaputo che la porosità delle strutture schiumogene o degli *scaffolds* fa sì che queste abbiano proprietà meccaniche (modulo elastico, tensione di rottura) inferiori rispetto al materiale denso e che queste proprietà ridotte sono una funzione della densità relativa (1- porosità) della struttura porosa [72]. Quindi, quando l'ingegneria tissutale usa strutture porose, queste devono avere proprietà meccaniche sufficienti per soddisfare i requisiti di integrità strutturale una volta impiantati nel tessuto ospitante.

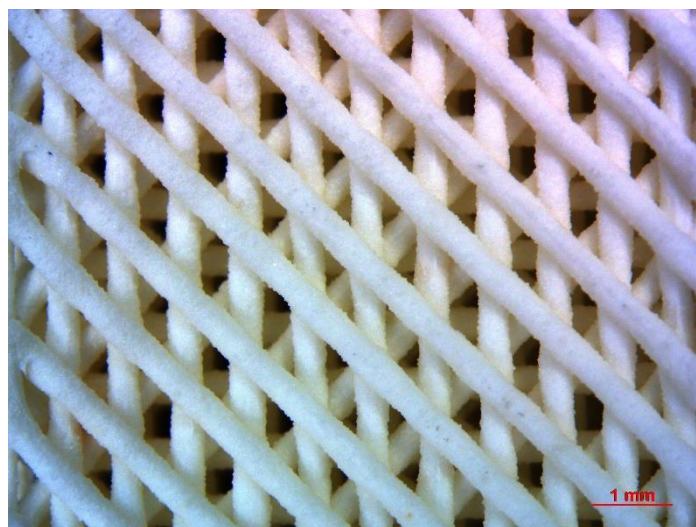
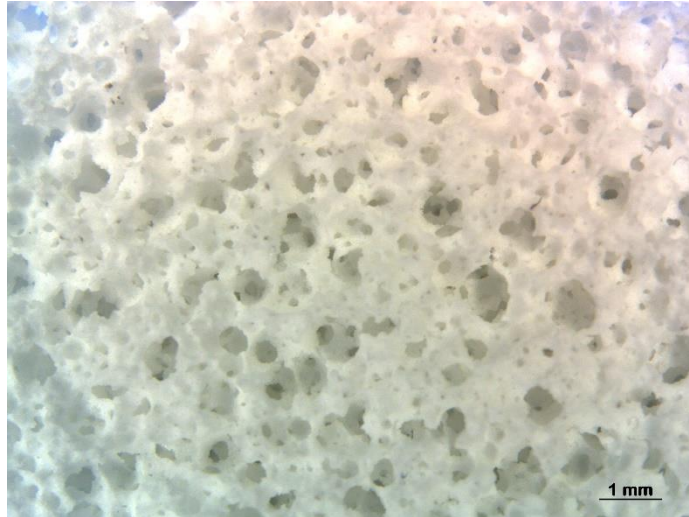


Figura 3.1. Intreccio dei filamenti di uno scaffold, dove è visibile la porosità organizzata e gerarchica della struttura.





*Figura 3.2. Schiuma in materiale bioceramico (Hardystonite), dove è visibile la porosità random, con distribuzione casuale dei pori.*

Per le applicazioni legate al tessuto osseo, il materiale ceramico deve avere proprietà meccaniche simili a quelle dell'osso, sebbene queste varino in un'ampia forbice e i valori dipendano strettamente della densità locale del tessuto e dalle condizioni ambientali. Ad esempio, l'osso corticale ha un modulo di Young in un *range* di 1-20 GPa e un carico di rottura tra 1-100 Mpa [83], mentre i valori per l'osso trabecolare sono di 0.1-1.0 Gpa per il modulo di Young e 1-10 Mpa di resistenza meccanica [84].

### **3.3 Proprietà meccaniche**

La dipendenza delle proprietà meccaniche dei ceramici cellulari, come il modulo di Young, la resistenza flessionale e a compressione, dalla porosità e dalla morfologia dei pori è di vitale importanza per le applicazioni strutturali. In particolare, una relazione *proprietà/porosità* è importante per predire i valori della suddetta proprietà, permettendo la personalizzazione della struttura cellulare affinché soddisfisi i requisiti meccanici.

I due modelli principali per l'interpretazione delle proprietà meccaniche dei ceramici cellulari sono i quelli di Gibson e Ashby [72] (modelli di GA), e quello della *Minimum Solid Area* (MSA), che non verrà approfondito in questa sede.

Il primo modello si concentra sulla fase solida della struttura, mentre il secondo sulla fase gassosa (la porosità e la sua distribuzione).

Il modello GA è basato sull'idealizzazione della struttura cellulare, come fosse composta da un numero poliedri cavi (celle), variamente accatastati e interconnessi. Queste celle sono composte di elementi monodimensionali (*cell edges*, spigoli della cella) e da

elementi bidimensionali (*cell faces*, facce della cella), che si suppone possano rappresentare l'intero campione. Anche il concetto di reticolo (*lattice*) è fondamentale per questo modello: infatti la connessione tra i poliedri determina un *network* tridimensionale che si ripete nello spazio. In scala micrometrica, la geometria di questi materiali cellulari assomiglia a quella delle strutture impalcate usate in ambito di costruzioni civili, ma mentre in questo ambito la struttura è ottenuta replicando strutture triangolari, dove tutti gli *strut* si comportano da elementi "asta" e quindi sono solo soggetti a trazione o compressione, nelle strutture *lattice* dei materiali cellulari il numero di spigoli per ogni faccia è maggiore di tre, con il risultato che queste strutture sono meno rigide e presentano un comportamento totalmente diverso al collasso. Di fatto queste strutture, non basate su facce triangolari, sono "*bending dominated*" [73].

Sotto carico, le strutture sono soggette al fenomeno del *buckling*, e quindi insorgono forti momenti flessionali. Nel caso di materiali ceramici, che hanno un comportamento elastico lineare fino a rottura, si arriva alla rottura progressiva degli spigoli, dato che non ci può essere eccessiva deformazione prima di arrivare a frattura, come invece accade nei materiali polimerici (Figura 3.3). Questo fenomeno è evidenziato nella curva sforzo-deformazione di Figura 3.4 [85]: dopo un tratto elastico lineare, la struttura continua a collassare a tensione costante (l'incremento di tensione con la deformazione è controbilanciato dalla successione degli eventi di frattura agli spigoli della cella), fino a che la struttura si compatta e la tensione risale.

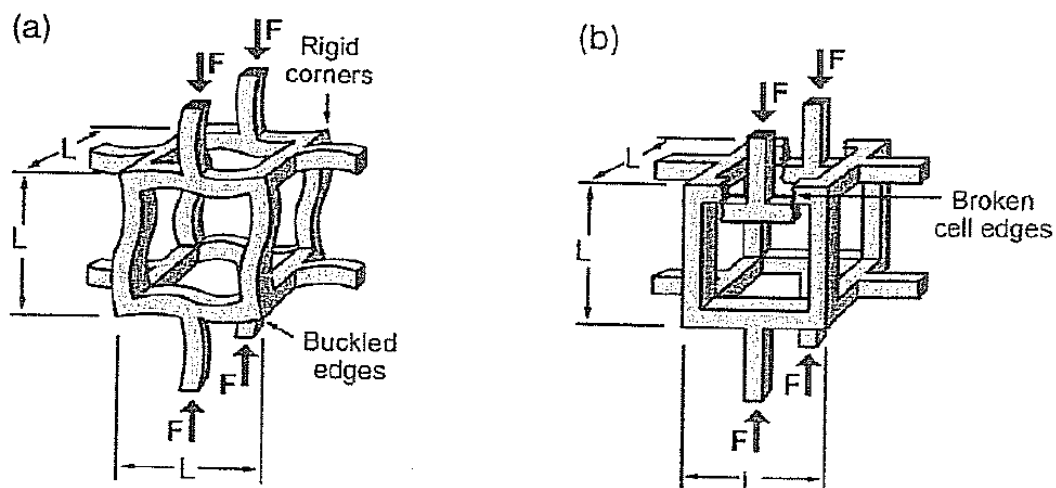


Figura 3.3. Modello di collasso per strutture cellulari "bending dominated". (a) Schiuma elastomerica; (b) schiuma fragile [73].

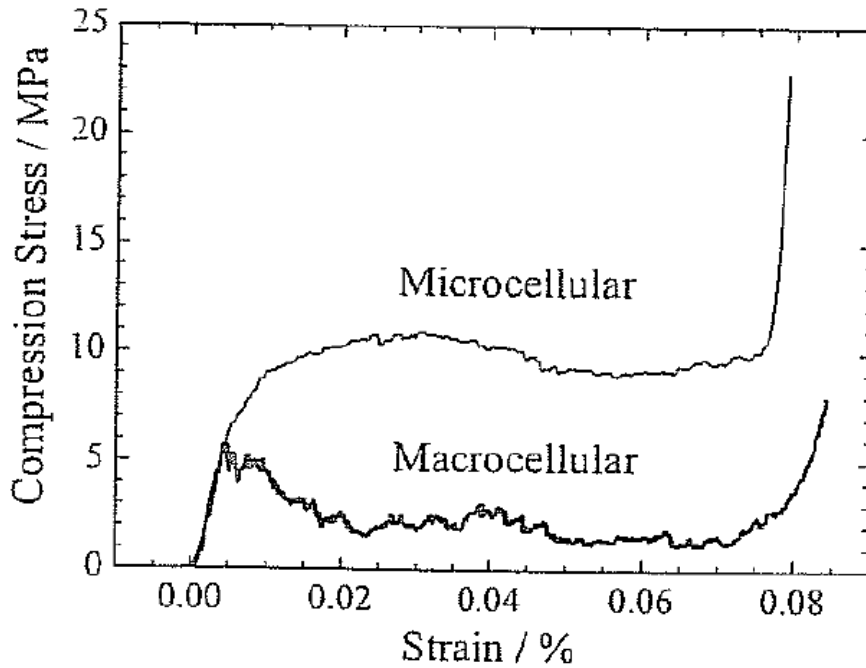


Figura 3.4. Curva sforzo-deformazione per schiume ceramiche di SiOC (macrocellulari, dimensione cella  $\sim 460 \mu\text{m}$ ; microcellulari, dimensione cella  $\sim 8 \mu\text{m}$ ) [85].

### 3.3.1 Relazione resistenza-porosità

Per strutture di tipo *bending dominated*, la relazione tra la resistenza a compressione della struttura porosa e la resistenza a flessione (carico di rottura) del materiale denso dipende dalla densità relativa  $\rho_r$ , che è il rapporto tra la densità geometrica del materiale cellulare  $\rho$  (rapporto tra la massa e il volume del campione, ovviamente compreso delle porosità) e la densità del materiale senza porosità [86]:

$$\rho_r = \rho / \rho_s \quad (1)$$

La resistenza a rottura quindi, è legata alla densità relativa dalla seguente equazione:

$$\frac{\sigma_{cr}}{\sigma_{fs}} \approx 0,2(\rho_r)^{3/2} \quad (2)$$

Dean-Mo Liu [87] ebbe a che fare con ceramici di idrossiapatite (HA) con porosità compresa tra il 45-78%; in Figura 3.5 si può osservare il grafico relativo a strutture porose con differenti dimensioni dei macro-pori:

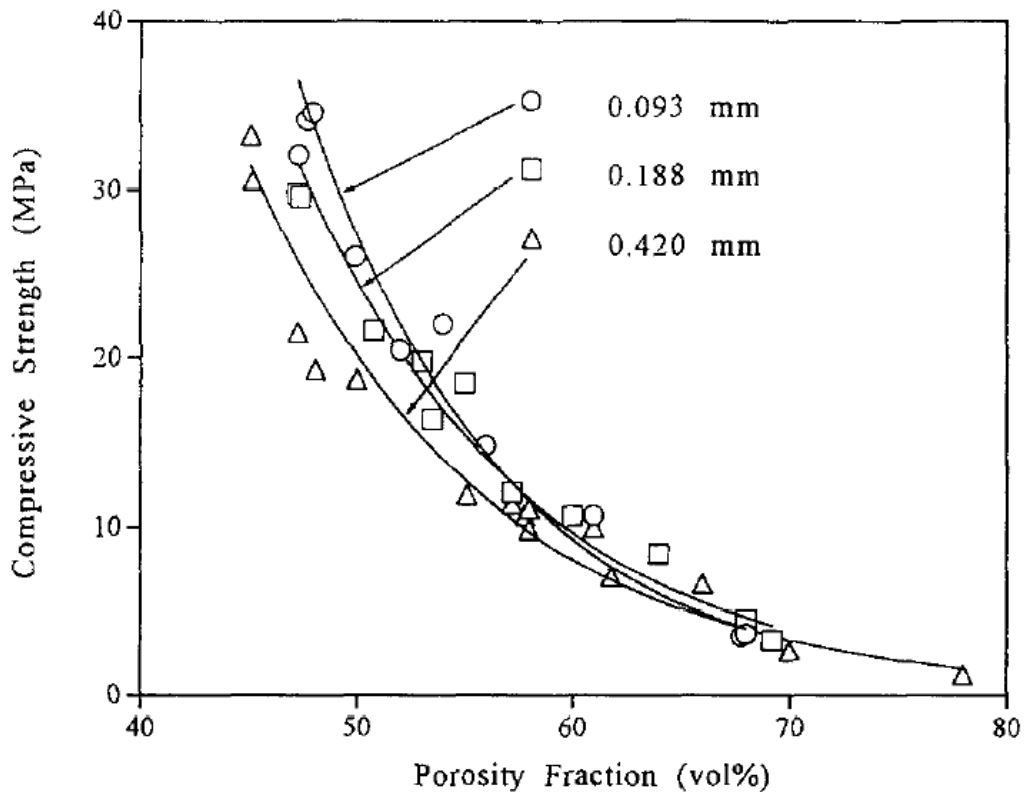


Figura 3.5. Comportamento sforzo-porosità dell'HA porosa in termini di diversa dimensione dei macropori [87].

Ad un livello relativamente elevato di porosità, >70%, la resistenza a compressione sembra non essere influenzata dalla dimensione dei pori; quando invece diminuiamo la porosità totale, allora la differenza di comportamento diventa marcata.

Generalmente possono essere usate un gran numero di espressioni per descrivere la relazione resistenza/porosità dei ceramici porosi. Uno dei metodi più semplici è stato proposto da Rice [88] ed è basato sull'approccio MSA, con cui si può ritenere che la dipendenza della resistenza dalla porosità possa essere espressa come segue:

$$\sigma = \sigma_0 e^{-bp} \quad (3)$$

dove  $\sigma_0$  è la resistenza del materiale denso con porosità nulla,  $\sigma$  la resistenza della struttura alla porosità  $p$  e la costante  $b$  che è correlata alle caratteristiche dei pori.

### 3.3.2 Relazione resistenza-dimensioni

Nei materiali fragili c'è una ben conosciuta correlazione tra la dimensione e la resistenza, con i campioni in ceramico di dimensioni maggiori che mostrano minore resistenza meccanica (intesa come sforzo di rottura) rispetto a quelli di dimensioni minori, perciò le strutture porose dimensionalmente più grandi avranno valori minori di tensione di rottura [72]. Questo va a supporto delle osservazioni fatte in precedenza, dove si osserva una diminuzione della resistenza con l'incremento delle dimensioni della cella nei ceramici e nei vetri porosi [89] [90] [91] [92].

Il modello di Weibull per la resistenza di materiali fragili afferma che lo sforzo di rottura medio di due gruppi di ceramici testati sotto le medesime condizioni,  $\sigma_1$  e  $\sigma_2$ , è scalato rispettivamente con il volume testato dei campioni stessi,  $V_1$  e  $V_2$ , dalla seguente relazione:

$$\frac{\sigma_1}{\sigma_2} = \left(\frac{V_2}{V_1}\right)^{1/m} \quad (4)$$

dove  $m$  è il modulo di Weibull.

La Figura 3.6 mostra la resistenza dei filamenti di materiale all'aumentare del volume del filamento; in questo caso il materiale è un vetro bioattivo [93].

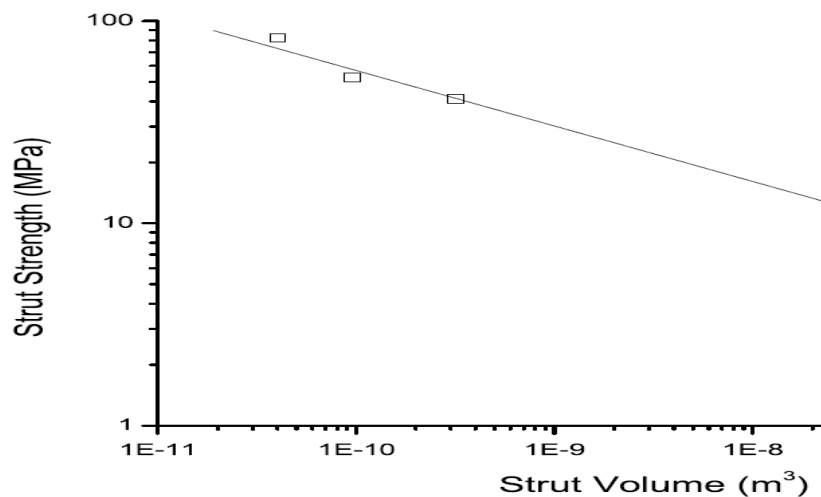


Figura 3.6. Andamento dello sforzo di rottura dei filamenti di uno scaffold con l'aumentare del volume del filamento stesso (scale logaritmiche). La linea mostra una regressione lineare dei dati, dove la pendenza della retta è  $-1/m$ , con  $m$  che è il modulo di Weibull [93].

# Capitolo 4

## Materiali e metodi

*In questo capitolo vengono descritti i materiali utilizzati: i filler ceramici e vetrosi e i polimeri preceramici. Successivamente viene analizzata la strumentazione utilizzata. Infine vi è la parte dedicata alla procedura sperimentale, dove vengono spiegati i metodi di preparazione dei campioni, di misura e di stampa.*

### 4.1 I materiali

Per questo lavoro di tesi sono state utilizzate due tecniche distinte di *Additive Manufacturing*: la *Direct Ink Writing* (DIW) e la *Digital Light Processing*, volte alla realizzazione di *scaffolds*. Per ciascuna è stato sperimentato un solo materiale, lo *sphene* ( $\text{CaTiSiO}_5$ , un silico-titanato di calcio) e un vetro del sistema  $\text{CaO-MgO-SiO}_2$ , definito *WDE* [94], rispettivamente.

#### 4.1.1 Lo *sphene*

Questo ceramico a base di ossidi di calcio, titanio e silicio è stato realizzato secondo il processo *polymer-derived ceramics* precedentemente descritto.

Il rapporto molare tra gli ossidi costituenti il materiale  $\text{CaO:TiO}_2:\text{SiO}_2$  è di 1:1:1.

Come principali precursori di silice  $\text{SiO}_2$  sono state usate due fonti: la prima è stata il polimero preceramico SILRES<sup>®</sup> MK, una resina silconica (polimetilsilossano) in forma di polvere che è stata dissolta in un solvente organico, l'isopropanolo. Dopo il processo di ceramizzazione, la resa ceramica di questo polimero silconico è dell'84 wt%. Per rendere completa la quantità di  $\text{SiO}_2$  necessaria al raggiungimento delle fasi cristalline, è stata aggiunta anche della silice colloidale (*fumed silica*) avente particelle di dimensioni nanometriche. Questa, essendo silice pura, presenta resa ceramica del 100 wt% una volta svolto il processo di ceramizzazione. La silice colloidale viene utilizzata per ottenere un inchiostro con comportamento reologico adeguato [95] [96].

I ceramici che sono stati usati come *fillers* attivi sono il carbonato di calcio  $\text{CaCO}_3$ , precursore dell'ossido di calcio, con polveri di dimensione micrometrica (~10  $\mu\text{m}$ ,

Industrie Bitossi, Vinci, Italia) e l'ossido di titanio  $\text{TiO}_2$  con polveri di dimensione nanometrica (~21 nm, Evonik Degussa GmbH, Germania) [97].

Lo *sphene* quindi è stato preparato quindi sciogliendo la polvere di MK in isopropanolo, aggiungendo poi  $\text{TiO}_2$  e  $\text{CaCO}_3$ .

Materie prime	Quantità [g]
Polimero MK	3,28
SiO <sub>2</sub> colloidale	0,31
TiO <sub>2</sub>	4,07
CaCO <sub>3</sub>	5,11

Tabella 4.1 Quantità di materie prime in [g] per ottenere 10 g di *sphene* [97].

### 4.1.2 Il vetro WDE

Il vetro WDE appartenente al sistema  $\text{CaO}:\text{MgO}:\text{SiO}_2$  ha rapporto molare 2:0,96:2,96 corrispondente all'eutettico del sistema wollastonite-diopside (~52 mol% W, 48 mol%D) [98]. Le percentuali in peso sperimentali degli ossidi costituenti sono 53,92 wt%  $\text{SiO}_2$ , 35,03 wt%  $\text{CaO}$ , 11,05 wt%  $\text{MgO}$ .

Il vetro è stato ottenuto fondendo, a 1375 °C per un'ora in crogioli di platino, una mistura di puri ossidi e carbonati. Il fuso è stato temprato per il diretto contatto con piatti di acciaio freddi. Il vetro ha solidificato in forma di blocchi irregolari, pieni di cricche e pori, e sono stati sottoposti a macinazione in un mulino a palle, per 3 ore, a 360 giri/min; le polveri ottenute sono state setacciate manualmente fino ad ottenere polveri di dimensione inferiore a 25  $\mu\text{m}$ .

L'inchiostro è stato realizzato mescolando le polveri del WDE con un polimero acrilico fotosensibile, utilizzato come legante sacrificale, con un rapporto in peso di 60 wt% e 40 wt% rispettivamente.

## 4.2 La strumentazione

Si riportano di seguito le principali strumentazioni utilizzate per le prove sperimentali e per la realizzazione dei campioni.

## 4.2.1 Forni

Per effettuare i trattamenti termici necessari vengono utilizzati due forni, entrambi lavorano in aria. Il primo è un forno a muffola (CARBOLITE), capace di arrivare fino a 1100 °C, equipaggiato con sistema di controllo PID Eurotherm 2416 CG a doppio display, programmabile con 8 segmenti a formato libero. Ogni segmento può essere programmato impostando la velocità della rampa di riscaldamento in °C/min, per arrivare alla temperatura desiderata, e la durata in minuti della fase di mantenimento a data temperatura. Il secondo è anch'esso un forno a muffola (TERSID), programmabile con 8 segmenti, con rampa di riscaldamento alla temperatura voluta e mantenimento della temperatura. Questo forno, a differenza del primo, ha una temperatura massima di 1600 °C.

## 4.2.2 Diffrazione a raggi X – Analisi XRD

Per la diffrazione a raggi-X viene utilizzato lo strumento BRUKER® D8 ADVANCE per diffrattometria delle polveri. Questa tecnica risulta essere molto importante per lo studio dello stato solido dei materiali, poiché permette di riconoscere le fasi cristalline che compongono il campione.



*Figura 4.1. Strumento BRUCKER® D8 ADVANCE per diffrattometria di polveri.*



Lo strumento sfrutta il fenomeno della diffrazione, associato alla deviazione della traiettoria di propagazione delle onde quando queste incontrano un ostacolo sul loro cammino. Gli effetti dovuti alla diffrazione avvengono quando la lunghezza d'onda elettromagnetica ad una precisa frequenza, viene fatta incidere sul campione di materiale. La sorgente del diffrattometro, che consiste in un fascio di raggi X di potenza 2 kW (40 kV, 40 mA), emette delle onde a frequenza nota, in modo tale che l'interazione con la materia produca calore, emissione di fotoni, fluorescenza, assorbimento e *scattering* (coerente o incoerente). È il fenomeno di *scattering* incoerente che è responsabile degli effetti di diffrazione. Infatti gli elettroni diffratti diventano sorgenti secondarie di radiazione X avente la medesima lunghezza d'onda della radiazione incidente. L'interazione con un materiale cristallino ha come conseguenza che i fasci diffusi si ricombinano costruttivamente solo in talune direzioni. In diffrattometria vengono sfruttati i raggi-X, in quanto la loro lunghezza d'onda è paragonabile alla spaziatura fra gli atomi di un cristallo, quindi risultano essere la sorgente adatta alla diffrazione su scala interatomica. Nel momento in cui queste onde interagiscono con gli atomi del campione, questi si comportano da reticolo di diffrazione, producendo raggi deviati solo per particolari angoli. Si può, attraverso il rivelatore, misurare questi angoli e ricavare il valore di spaziatura del reticolo di diffrazione, ovvero la distanza tra i nuclei degli atomi del materiale. Nel *pattern* il picco ottenuto rappresenta l'evento di diffrazione e la sua altezza è direttamente proporzionale all'intensità di avvenimento dell'evento stesso.

### 4.2.3 Stereomicroscopio ottico

Per poter ottenere una visuale ad elevata risoluzione delle superfici, delle porosità e dei difetti dei materiali viene utilizzato uno stereomicroscopio ottico Zeiss Stemi 2000C. Lo strumento consente di osservare ad occhio nudo l'immagine del campione in ingrandimenti da 1X a 5X. La possibilità di associare alla strumentazione ottica l'apparecchiatura digitale AxioCam ERc5s permette di digitalizzare le immagini delle zone di interesse del campione.

### 4.2.4 Picnometro

Per effettuare le misure di densità su campioni e polveri si utilizza un picnometro ad elio MICROMETRICS™ ACCUPYC 1330. Lo strumento si basa su principi fisici che legano la pressione di un gas col suo volume (legge di Boyle). Pertanto, il volume del campione

viene misurato come variazione di pressione dell'elio in una camera standard. La densità viene poi calcolata automaticamente dallo strumento dividendo la massa del campione per il volume trovato. Il gas utilizzato è l'elio, date le sue ridotte dimensioni molecolari, oltre al fatto che risulta inerte, e presenta un comportamento che si avvicina a quello di un gas ideale.

#### **4.2.5 Prova di compressione**

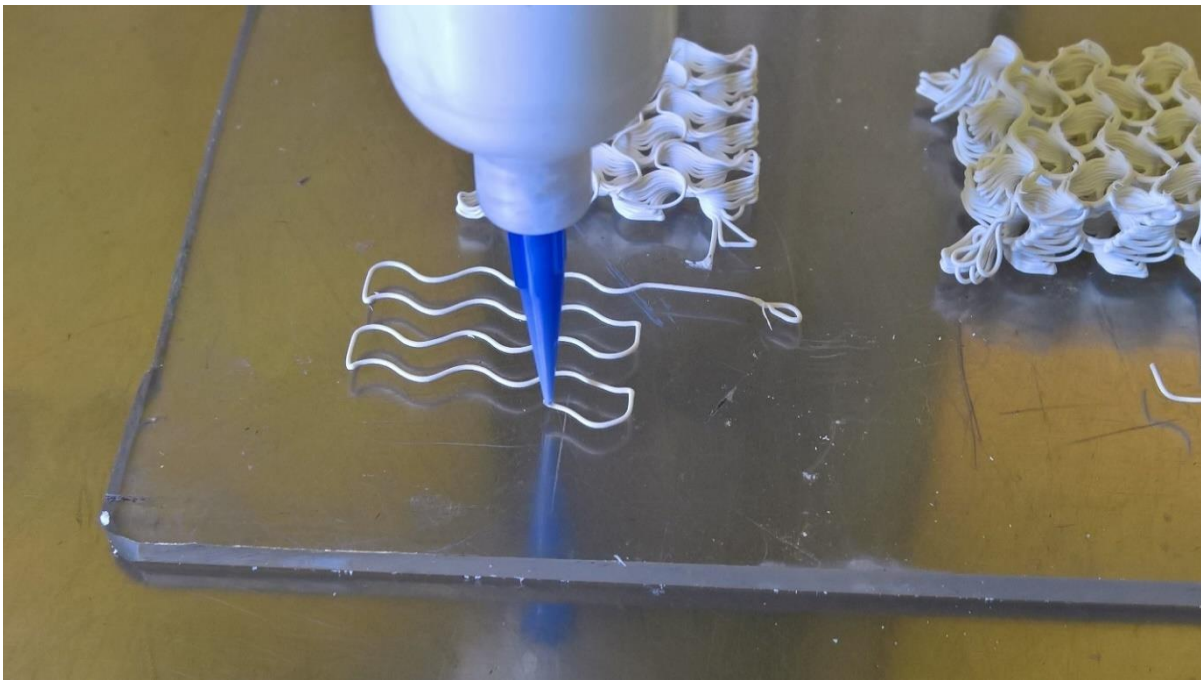
Il macchinario utilizzato per le prove di compressione sui campioni è un INSTRON® Tensile Testing Machine model 1121. Lo strumento è formato da una colonna verticale con strumentazione di controllo della forza e della velocità di discesa o di salita della cella di carico. Al sistema di acquisizione dati originale è stato affiancato un sistema digitale, collegato ad un elaboratore elettronico, così da ottenere in tempo reale i dati forniti dalla cella di carico. Si ottiene, tramite il software apposito, l'output della forza applicata al provino durante il test, attraverso un grafico in tempo reale forza/tempo generati dal computer. In questo caso il macchinario viene utilizzato nella configurazione di test a compressione, ma presenta anche la possibilità di effettuare prova di trazione o di flessione.

#### **4.2.6 Stampante *Direct Ink Writing***

Per la realizzazione di *scaffolds* mediante la tecnica DIW, si utilizza la stampante 20x40 Delta Turbo, prodotta dall'azienda italiana Wasp (Massa Lombarda, Italia) e riportata in Figura @numerofigura. Questa macchina, seppur progettata per le lavorazioni di materiali polimerici e ceramici, quali la porcellana e l'argilla, ma non per l'*Additive Manufacturing* di biomateriali a partire da polimeri preceramici e *fillers* ceramici o vetrosi, si presta comunque ad essere utilizzata per la stampa 3D dei materiali sintetizzati in questa tesi. Questo grazie all'eccellente formabilità fornita dai polimeri preceramici, quali il silicone MK, miscelati ai *fillers*. L'inchiostro viene inserito in una siringa, caratterizzata da una capienza di 30 cm<sup>3</sup>. L'estrusione del filamento è permessa da un ugello conico, di diametro 0,41 mm, prodotto dall'azienda statunitense Nordson EFD (Westlake, Ohio), grazie ad un dispositivo di collegamento tra la siringa e l'attacco per l'aria compressa, che fornisce la pressione necessaria e regolabile affinché il filamento venga estruso. La stampante è dotata di un display da cui è possibile regolare non solo la velocità di flusso, ma anche l'altezza a cui posizionare l'estrusore.



*Figura 4.2. Stampante 20x40 Delta Turbo (Wasp, Massa Lombarda, Italia)*



*Figura 4.3. Processo di stampa per estrusione di filamento.*

## 4.2.7 Stampante DLP

Questa tecnologia di stampa necessita di una resina fotosensibile per poter funzionare, per questo motivo viene utilizzato, come polimero puramente sacrificale, una resina acrilica commerciale, prodotta dall'azienda Fun To Do, Alkmaar, Netherlands. La stampante utilizzata per questo scopo è il modello 3DL Printer-HD 2.0 prodotto dall'azienda italiana Robotfactory S.r.l. (Mirano, Italia) e riportato in Figura 4.4 [99].

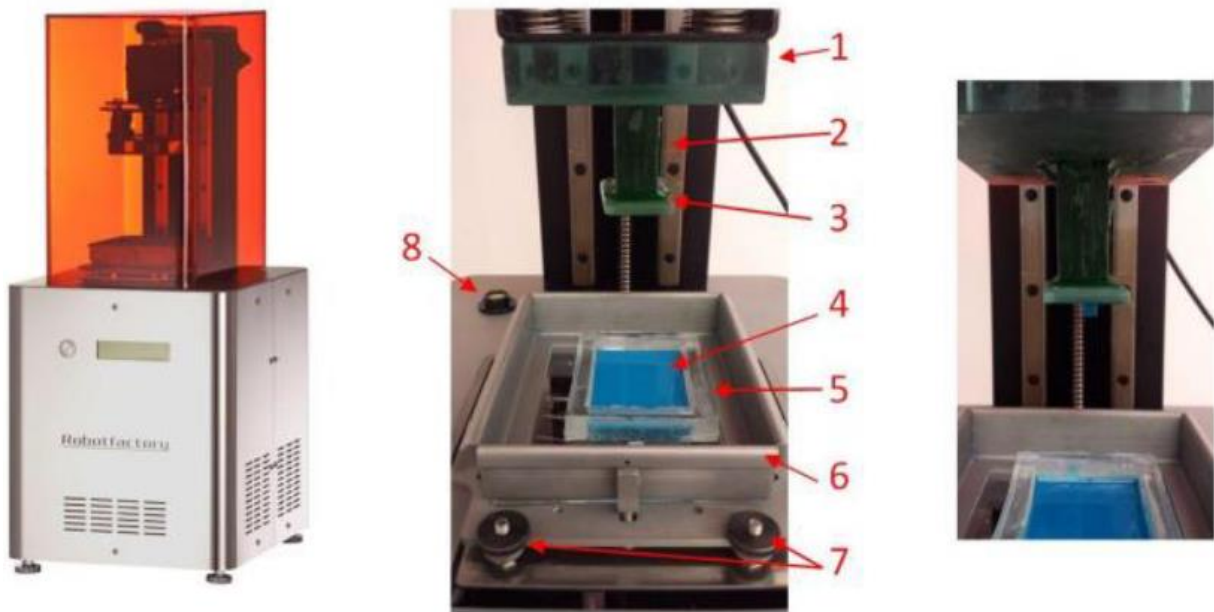


Figura 4.4. A sinistra stampante 3DLP Printer\_HD 2.0 (Robotfactory S.r.l., Mirano, Italia); componenti della zona di stampa: 1. Piastra costruzione originale; 2. Blocco in resina verde; 3. Nuova piattaforma di costruzione; 4. Resina liquida; 5. Vaschetta in PDMS come serbatoio per la soluzione; 6. Vaschetta originale; 7. Viti per l'orientazione della vaschetta originale; 8. Strumento per la messa in bolla della vaschetta; a destra, particolare della configurazione top-down secondo cui viene realizzato l'oggetto

La macchina utilizza la tecnologia di prototipazione DLP<sup>®</sup> (*Digital Light Processing*), un'evoluzione rispetto alla Stereolitografia tradizionale che impiega il laser come sorgente di luce. Questo recente sistema di stampa polimerizza invece la resina liquida tramite dei proiettori LED o LCD. Il principio di funzionamento è fondamentalmente quello già descritto: un proiettore proietta in sequenza una serie di immagini nel polimero liquido, contenuto nell'apposita vaschetta, quindi nelle zone colpite dalla luce la resina si indurisce; infine la piastra di costruzione si alza di pochi decimi di millimetro e il materiale fotosensibile è di nuovo esposto ai raggi UV. Il processo si ripete finché il modello non

viene completato, strato per strato. Ciò che contraddistingue questo modello rispetto alle altre stampanti presenti in commercio è sicuramente l'eccezionale velocità di stampa, grazie al movimento della vaschetta contenente la resina che permette la solidificazione dell'intero strato in un'unica operazione. In più la tecnologia DLP<sup>®</sup>, assicurando precisione e risoluzione, è particolarmente indicata per ottenere ottimi livelli di dettaglio e qualità delle superfici, garantendo accuratezza e definizione 3D. I componenti (mostrati in Figura 4.4) che costituiscono la stampante sono descritti di seguito:

- piastra di costruzione originale (1), formata da un blocco di vetro che, essendo fissata ad un sistema meccanico in grado di traslare durante la rampa, si alza dopo la deposizione di ogni strato in modo da completare la reticolazione della struttura da riprodurre;
- blocco in resina verde (2), in dotazione insieme alla macchina, e nuova piattaforma di costruzione in vetro (3) che sono stati aggiunti durante prove sperimentali precedenti, presso i laboratori del Dipartimento di ingegneria industriale dell'Università di Padova, per permettere l'adattamento della stampante alla nuova vaschetta in PDMS (5) più piccola dell'originale (6). La struttura realizzata si attacca alla nuova piattaforma (3);
- vaschetta PDMS (5), che contiene la resina polimerica fotosensibile (4); rispetto a quella originale in vetro (6) permette di sprecare meno materiale e di eseguire quindi più prove. Per il corretto funzionamento la vaschetta deve soddisfare i requisiti di trasparenza, per permettere il passaggio inalterato della radiazione luminosa, e di antiadesione dello *scaffold* in costruzione, in modo che non vi sia reticolazione del materiale sul fondo della vaschetta;
- quattro viti per orientare la vaschetta (7), per evitare distorsioni nell'oggetto da stampare;
- strumento per mettere in bolla la vaschetta (8);
- proiettore LED con marchio Acer che emette radiazioni UV-visibile di lunghezza d'onda compresa nell'intervallo 400-600nm; grazie ad un filtro apposito la radiazione di fondo emessa di continuo dalla sorgente (lunghezza d'onda tra i 500-800 nm) viene bloccata.

Durante la stampa la macchina è collegata al software di gestione *Printer 3DLP*, fornito direttamente dalla casa produttrice della stampante, che permette di controllare il numero di *layer* già depositati ed eventualmente di interrompere l'operazione.

## 4.3 Procedura sperimentale

Ora verranno descritte le modalità di realizzazione degli *scaffolds*, partendo dalla generazione dei modelli nel software, passando per la traduzione di quanto generato al linguaggio macchina (*g-code* o *STL file*), per poi andare alla parte operativa vera e propria, ovvero la preparazione dell'inchiostro, la stampa, l'essiccamento e il trattamento termico, che permette di convertire i precursori, polimerici e non, nel nostro ceramico finale.

### 4.3.1 Procedura di stampa DIW

Tramite la tecnica *Direct Ink Writing* sono stati realizzati degli *scaffold* in *sphene*  $\text{CaTiSiO}_5$ .

La procedura viene suddivisa in diverse fasi:

1. generazione dei modelli virtuali 3D da stampare, con relativa progettazione del percorso da far svolgere all'estrusore, dato che, *layer by layer*, i vari piani che vanno a costituire gli *scaffolds* sono collegati. Infatti la macchina potenzialmente lavora su 3 assi, ma per natura stessa di questi "impalcati" (*scaffold* significa proprio "impalcatura, ponteggio") è necessario lavorare su 2 assi e mezzo, dato che la pasta preceramica che viene estrusa non ha caratteristiche per auto-reggersi, e dunque va' a poggiare sul *layer* immediatamente sotto;
2. preparazione dell'inchiostro contenente il polimero preceramico, l'MK, i *fillers* ceramici ( $\text{TiO}_2$ ,  $\text{CaCO}_3$ ) tra cui anche la silice colloidale  $\text{SiO}_2$ , che è necessario per conferire maggiore viscosità alla pasta e quindi renderla reologicamente adatta alla stampa (pseudoplastica);
3. attenta miscelazione dei componenti;
4. montaggio dei componenti dei cui è dotata la stampante utilizzata, regolazione dei parametri di stampa dal display (velocità di flusso, velocità della macchina e altezza dell'estrusore), apertura del collegamento con l'aria compressa per fornire la pressione necessaria ad estrarre il filamento ed avvio della stampa;
5. essiccamento dei campioni realizzati, al fine di eliminare il solvente utilizzato, l'isopropanolo, per disperdere l'MK, l'additivo e i *fillers*;
6. trattamento termico di sinterizzazione, con lo scopo di convertire il precursore polimerico in un residuo completamente ceramico, farlo reagire con i *fillers* ceramici per compensare la  $\text{SiO}_2$  mancante e conferire agli *scaffolds* le proprietà meccaniche desiderate.

### 4.3.2 Progettazione dei modelli 3D degli *scaffolds* e generazione del *g-code* contenente le istruzioni macchina

Come espresso in precedenza, l'obiettivo di questa tesi è confrontare diverse topologie di *scaffolds* bioceramici, provenienti da polimeri preceramici, per andare a verificare l'influenza della struttura dell'impalcato sulle proprietà meccaniche dello stesso. Infatti, è noto che la geometria di ogni oggetto che ci circonda è ottimizzata per la specifica applicazione a cui questo è sottoposto, a parità di volume di massa impiegato:

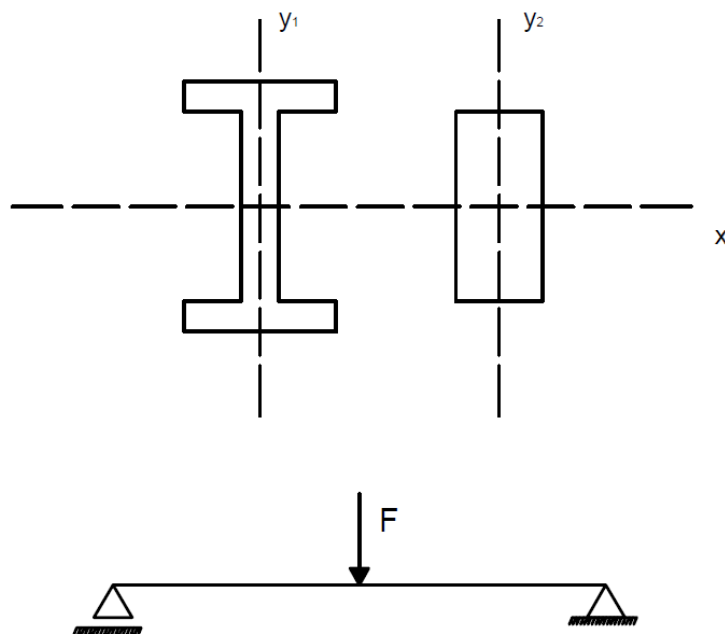


Figura 4.5. Esempio di ottimizzazione della sezione di una trave sottoposta allo schema statico appoggio-appoggio con forza concentrata nel mezzo: la sezione ottimale è quella a "doppia T" rispetto a quella rettangolare, a parità di area, perché le masse vengono distribuite più verso l'esterno, ovvero dove ci sono i punti di massima tensione.

Fino ad ora, ancora non erano stati realizzati *scaffolds* per DIW con il materiale che abbiamo realizzato, lo *sphene*; con questo lavoro si è dunque partiti dalla classica architettura a reticolo incrociato 0\_90, fino ad arrivare ad un *proof of concept*, dove è stato possibile realizzare una struttura di *gyroid*, solitamente realizzata solo con tecniche dove rientra la fotosensibilizzazione del polimero scelto (DLP ad esempio), questa volta creata tramite estrusione di filamento.

Sono state create e dopo testate a compressione, cinque diverse architetture di *scaffolds*, due architetture esagonali, che differiscono tra loro per le inclinazioni che assume il filamento nel descrivere il *pattern* e per il diverso tipo di contatto che c'è tra *layer* successivi, e tre architetture di incrocio.

Le condizioni al contorno a cui abbiamo dovuto adattare la nostra analisi sono state:

1. dimensione del filamento da estrarre di 0,4 mm;
2. porosità obiettivo di almeno il 60%, cercando di far sì che tra i vari modelli non ci sia uno scarto superiore al 5%;
3. la capacità della stampante di definire tratti lineari prima di cambiare direzione non inferiori a 0,5 mm;
4. penetrazione tra filamenti appartenenti a due piani consecutivi equivalente a 0,32 mm, ovvero all'80% del diametro del filamento, in modo che ci sia buona "saldatura" tra *layers* successivi.

#### 4.3.2.1 *Scaffolds* Esagonali

La prima architettura, denominata *scaffold* Esagonale 1, è stata creata sulla base di un *honeycomb* regolare, dove poi si è andati a tracciare le linee medie del filamento da estrarre, ovvero gli assi di ciascuno *strut* in uscita dall'ugello della stampante.

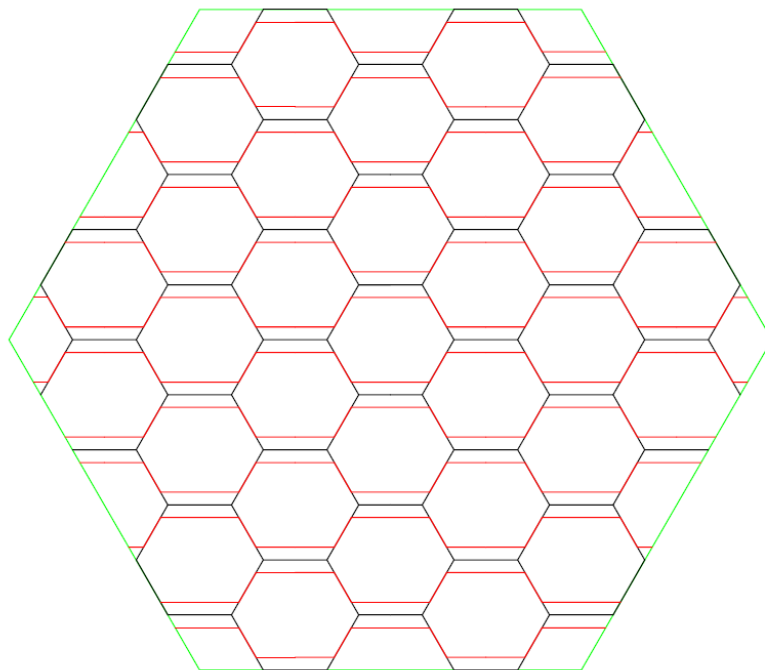


Figura 4.5. Schema di 1 layer della struttura esagonale (in rosso), sulla base di un *honeycomb* regolare (nero).



Il programma utilizzato per approcciare inizialmente il problema in 2D è stato AUTOCAD®, dove è stato molto semplice modellare il concetto: come si vede in Figura 4.5, in nero vediamo la base ad *honeycomb* (nido d'ape) regolare, sopra cui è stata costruita la trama esagonale.

I *layer*, però, non sono orientati allo stesso modo, livello per livello, ma sono stati ruotati di 120° rispetto al precedente sopra cui sono depositi, questo perché, altrimenti, non si sarebbe realizzata una struttura porosa adatta ad applicazioni biomedicali per il *bone tissue engineering*, ma semplicemente un estruso di materiale ceramico.

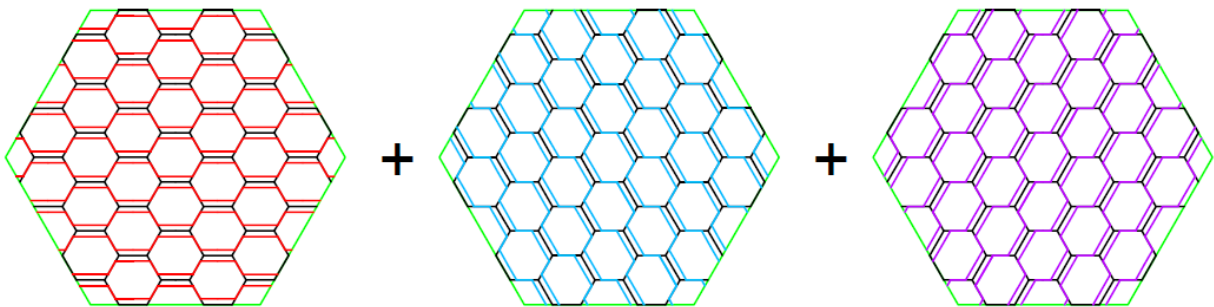


Figura 4.6. Sovrapposizione del primo, secondo e terzo layer, secondo la vista 2D che fa riferimento alle linee medie del filamento.

La spaziatura tra i due filamenti paralleli è stata assunta come metà del diametro degli stessi, ovvero 0,2 mm. Quindi tenendo conto del fatto che sul modello 2D si è lavorato con le linee medie, la spaziatura è equivalsa a 0,6 mm, poiché si è dovuto tener conto di metà diametro per entrambi gli *strut*.

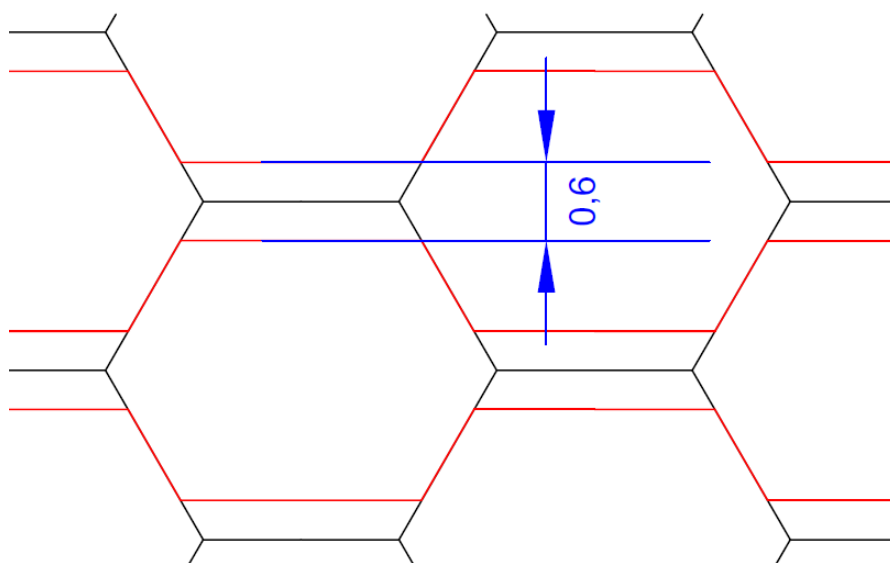
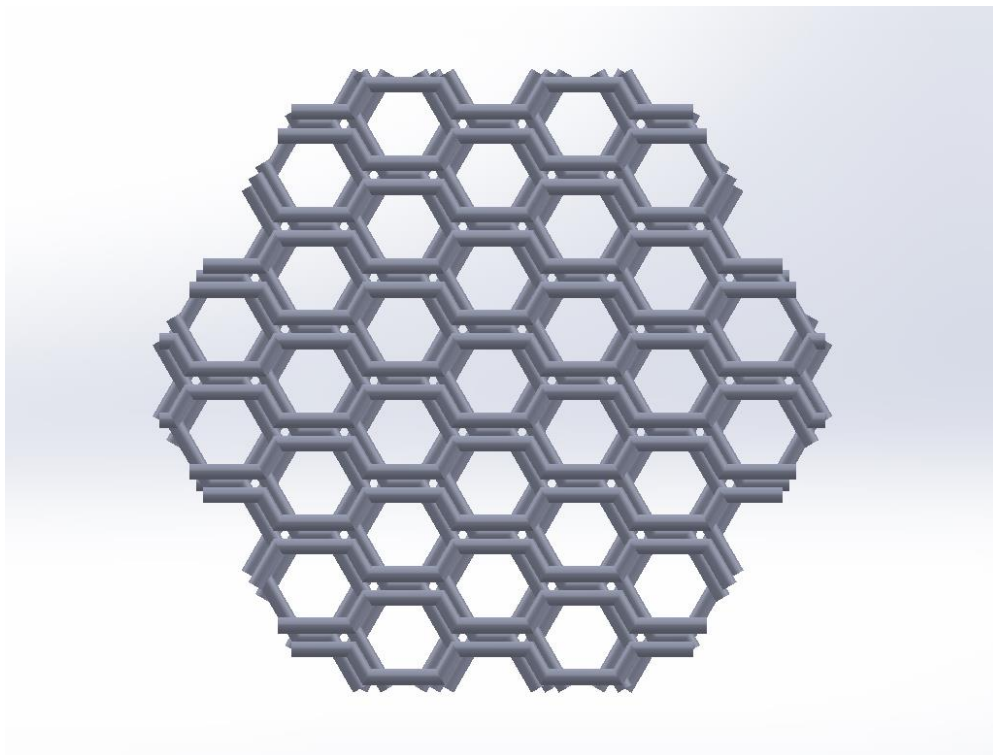


Figura 4.7. Dettaglio della spaziatura tra le linee medie dei filamenti.

Questa spaziatura è stata scelta in virtù del fatto che, durante lo schiacciamento del filamento del livello  $n$ , dovuto ad una compressione, questo possa trovare dei punti di appoggio nel *layer* sottostante del livello  $n-1$  e quindi, andando ad aumentare i punti di contatto in tutta la struttura, diminuire gli effetti di accumulo tensionale sui singoli filamenti. Inoltre, i filamenti che seguono la direzione “obliqua”, poggiano, una volta soggetti a carico, in alternanza su un filamento obliquo o su due filamenti paralleli del livello  $n-1$ . Con questo tipo di trama, si vanno anche ad evidenziare delle porosità principali e delle porosità secondarie, come è visibile in Figura 4.8, che riassume la sovrapposizione dei diversi *layer* in un modello 3D, realizzato grazie al software SOLIDWORKS®.



*Figura 4.8. Modello del pattern esagonale realizzato in ambiente CAD 3D.*

È visibile in Figura 4.9 il fatto che c'è la presenza di porosità non solo in direzione  $z$ , ovvero in direzione delle porosità principali e secondarie, ma anche nel piano  $x-y$ , condizione fondamentale per garantire che i fluidi corporei possano penetrare nello *scaffold* e garantire l'apporto delle sostanze alle cellule che si insidieranno sulla struttura. La sovrapposizione si articola di 12 strati, che costituiscono quindi la ripetizione per quattro volte dei tre *layer* sovrapposti.

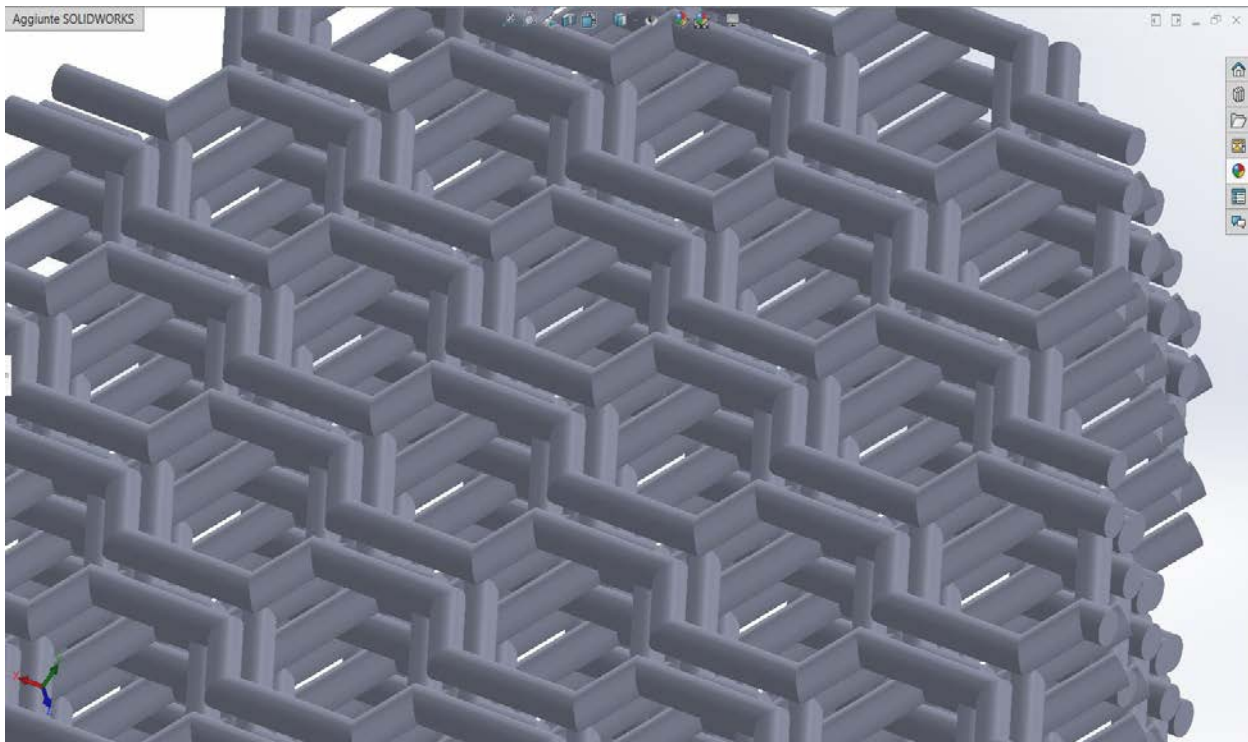


Figura 4.9. Dettaglio del modello che mostra la presenza di porosità anche nel piano x-y.

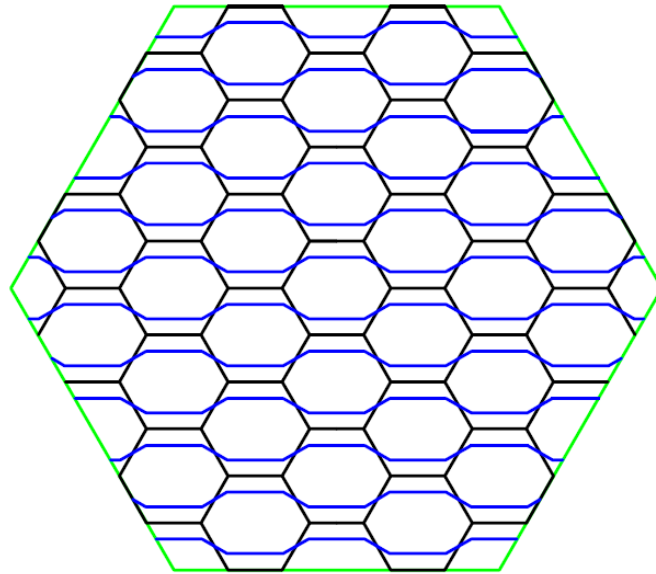
Per quanto riguarda l'altro modello esagonale, sono state fatte delle varianti all'architettura dell' Esagonale 1 per avere una diversa modalità di contatto tra gli *struts* e una diversa distribuzione di porosità, quindi, in sede di test di compressione, verificare quale struttura possa portare i maggiori vantaggi dal punto di vista della resistenza meccanica e della rigidità.

Con l'Esagonale 2 abbiamo semplicemente modificato l'inclinazione del tratto obliquo della trama, portandolo dai  $60^\circ$  che rispecchiano l'*honeycomb* sullo sfondo, a  $30^\circ$ , andando quindi ad aumentare la spaziatura tra due tratti di filamento paralleli; allo stesso tempo è variata la distribuzione di porosità, rendendo le porosità principali più ridotte e quelle secondarie più pronunciate rispetto a prima; di fatto la porosità risulta distribuita più uniformemente e anche i pori in direzione x-y sono più numerosi e di maggiore dimensione.

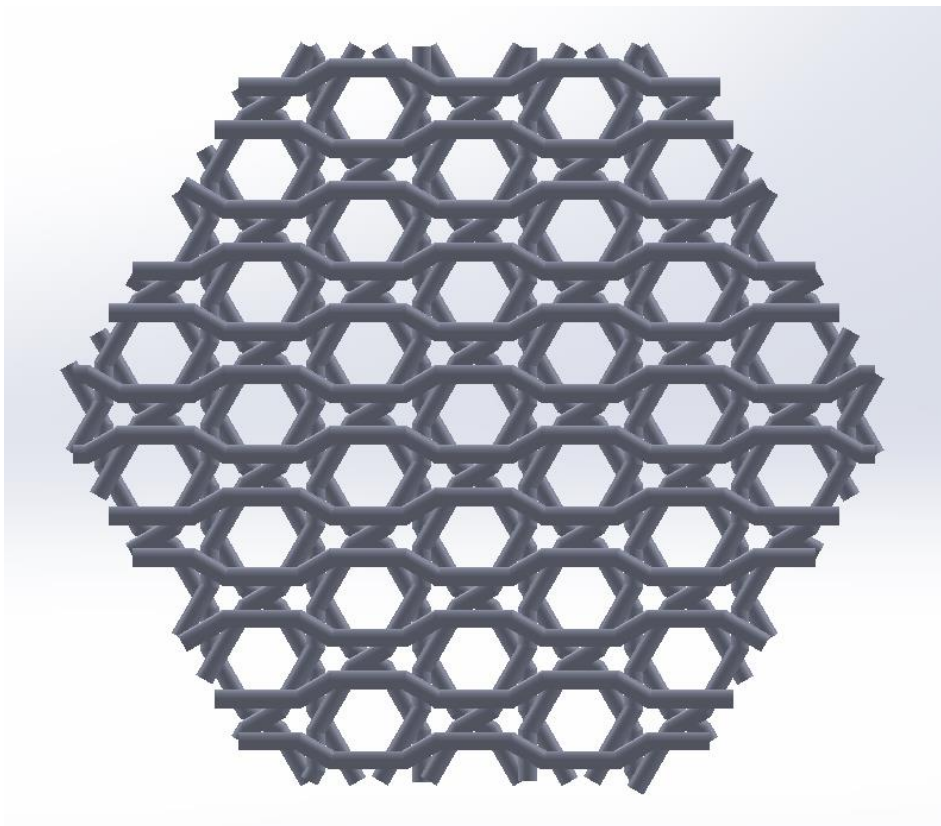
Qui cambiano notevolmente le modalità di contatto tra gli *struts*: i contatti risultano più "puntiformi" e distribuiti su porzioni di superficie minore, a tutto svantaggio degli effetti di concentrazione di sforzo. Tuttavia, per quanto riguarda la proliferazione cellulare e il trasporto di fluidi corporei, questa morfologia di pori dovrebbe aumentare la facilità di trasporto cellulare, la proliferazione stessa e, infine, la rigenerazione finale del tessuto.

È molto importante, infatti, anche considerare e fare una previsione delle proprietà di trasporto di massa dello *scaffold* stesso, dato che, per le applicazioni legate al *bone tissue*

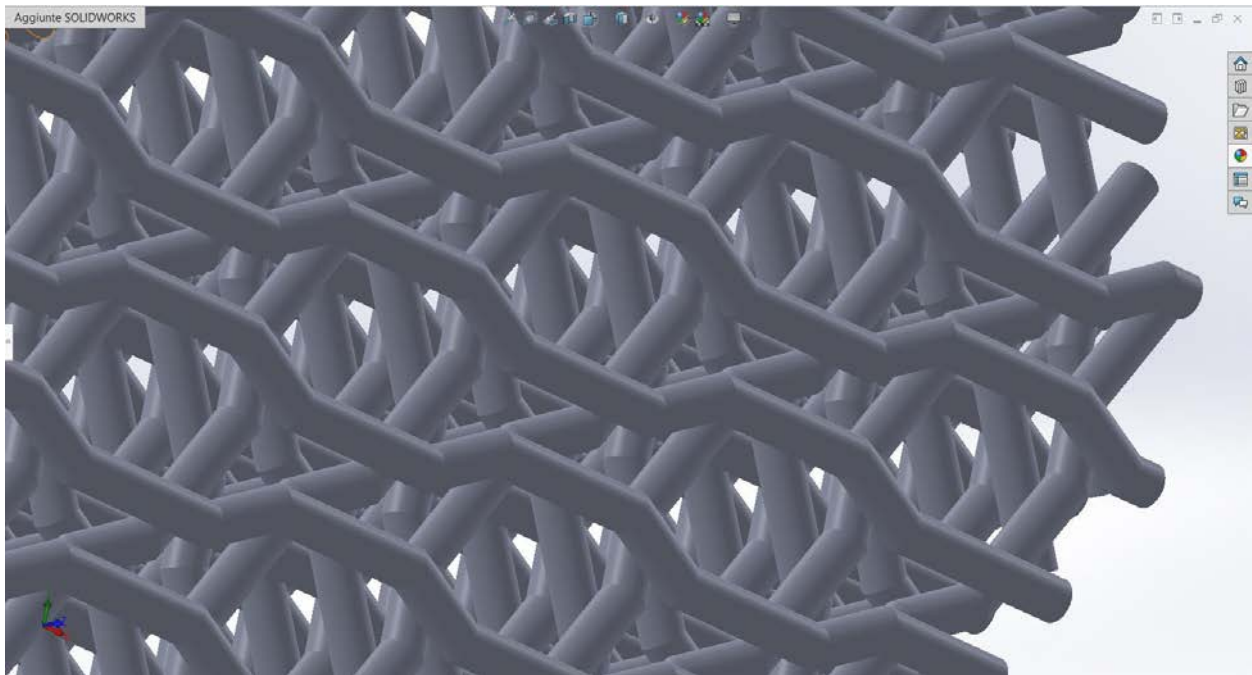
*engineering*, non sono da considerare solamente le caratteristiche meccaniche ma la soluzione migliore consiste sempre nel compromesso tra le due.



*Figura 4.10. Modello 2D dell'architettura denominata Esagonale 2, con orientamento dei filamenti.*



*Figura 4.11. Modello 3D dell'Esagonale 2. Si notano le porosità secondarie di dimensione maggiore rispetto al primo modello, a scapito dei contatti tra i filamenti.*



*Figura 4.12. Particolare 3D della tipologia di scaffold Esagonale 2, dove si vede che la distribuzione di porosità è più omogenea rispetto al tipo Esagonale 1.*

#### **4.3.2.2 Scaffolds reticolati**

Per quanto riguarda gli scaffold a forma di reticolo, le geometrie prese a riferimento sono state tre:

1. reticolo con il primo filamento orientato a  $0^\circ$  e il secondo a  $90^\circ$  rispetto all'orizzontale, per un totale di dodici strati, equivalente al numero di strati del *pattern* esagonale, visibile in Figura 4.13; la spaziatura adottata tra i filamenti paralleli appartenenti allo stesso livello è stata di  $700\ \mu\text{m}$ ;
2. reticolo con il primo filamento a  $0^\circ$ , il secondo a  $45^\circ$ , il terzo a  $90^\circ$  e il quarto a  $135^\circ$  rispetto all'orizzontale; qui si è adottata una spaziatura non uguale nei diversi orientamenti:  $600\ \mu\text{m}$  per i filamenti orientati a  $0^\circ$  e  $90^\circ$  mentre  $800\ \mu\text{m}$  per quelli orientati a  $45^\circ$  e a  $135^\circ$  (Figura 4.14 e 4.15);
3. reticolo con gradiente di porosità dall'esterno verso l'interno: è stato scelto di testare una struttura di questo tipo per vedere sia la risposta del materiale ad un eventuale collasso della struttura nel mezzo, data la maggiore porosità rispetto agli strati più esterni, sia per vedere l'influenza sulle proprietà meccaniche (Figura 4.16 e 4.17). I *layers* più esterni hanno spaziatura tra i filamenti di  $550\ \mu\text{m}$ , il terzo e il quarto di  $700\ \mu\text{m}$ , fino ad arrivare al centro, dove sono spaziati di  $850\ \mu\text{m}$ .

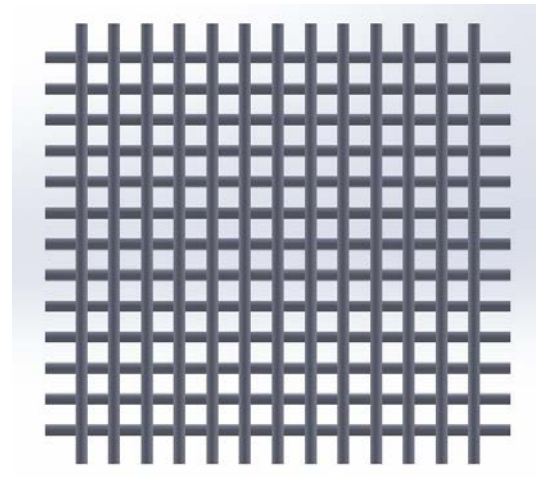
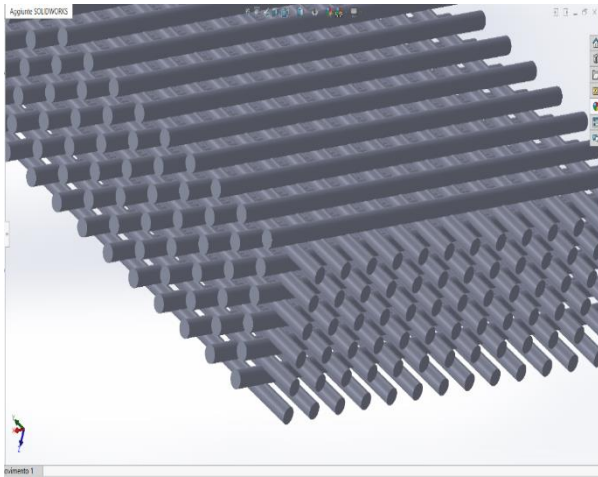


Figura 4.13. Reticolo incrociato con angoli di  $0^\circ$  e  $90^\circ$  rispetto all'orizzontale in alternanza: vista prospettica (a sinistra) e vista superiore (a destra).

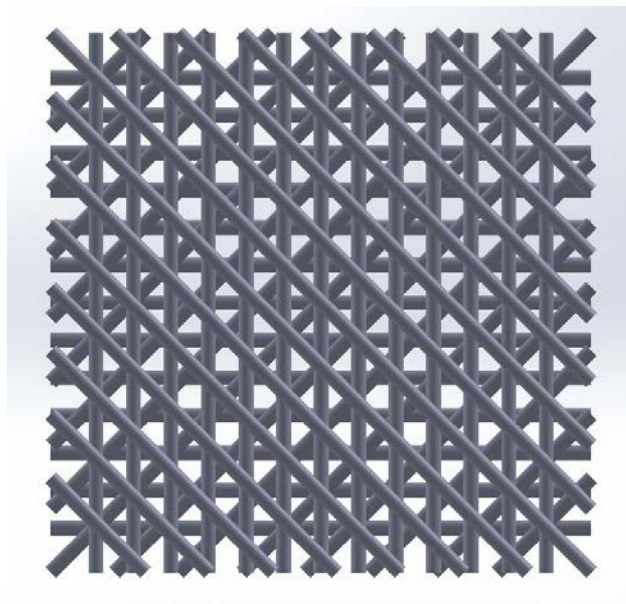


Figura 4.14. Seconda tipologia di reticolo incrociato, con ogni layer che risulta ruotato di  $45^\circ$  in senso antiorario rispetto al precedente.

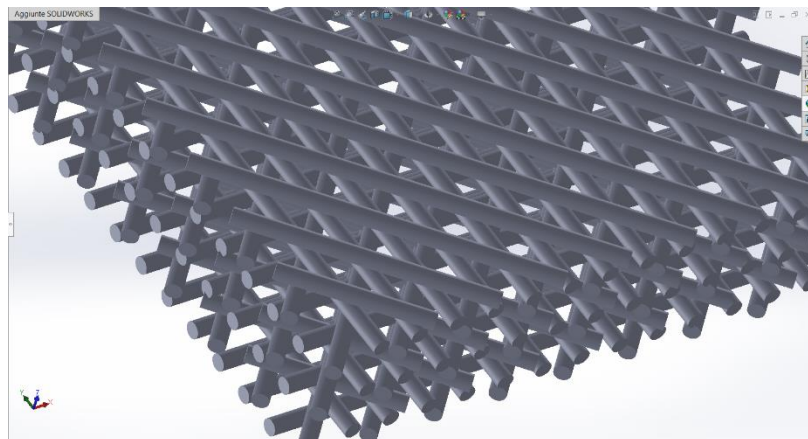


Figura 4.15. Dettaglio prospettico della trama  $0^\circ$ - $45^\circ$ - $90^\circ$ - $135^\circ$ .

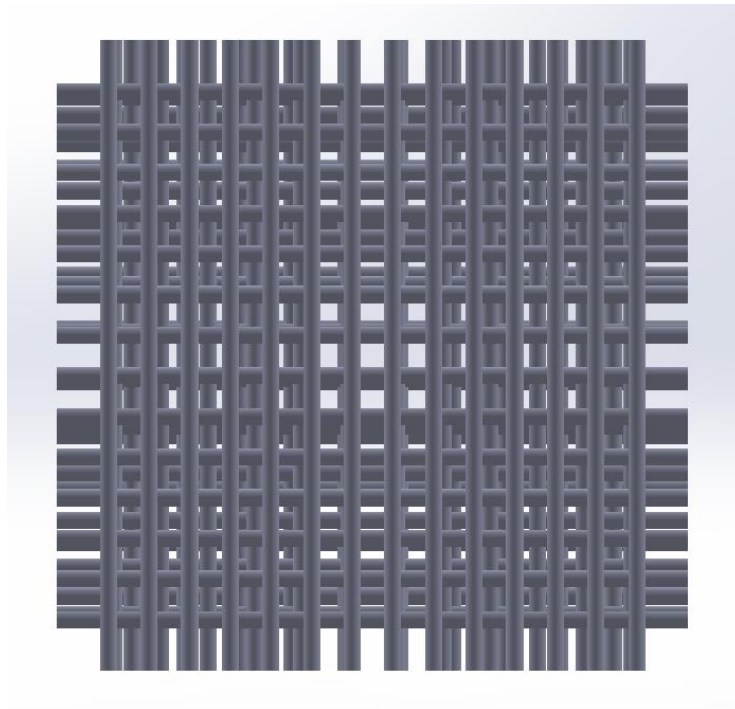


Figura 4.16. Terza tipologia di scaffold reticolato, con gradiente di porosità dall'esterno verso l'interno.

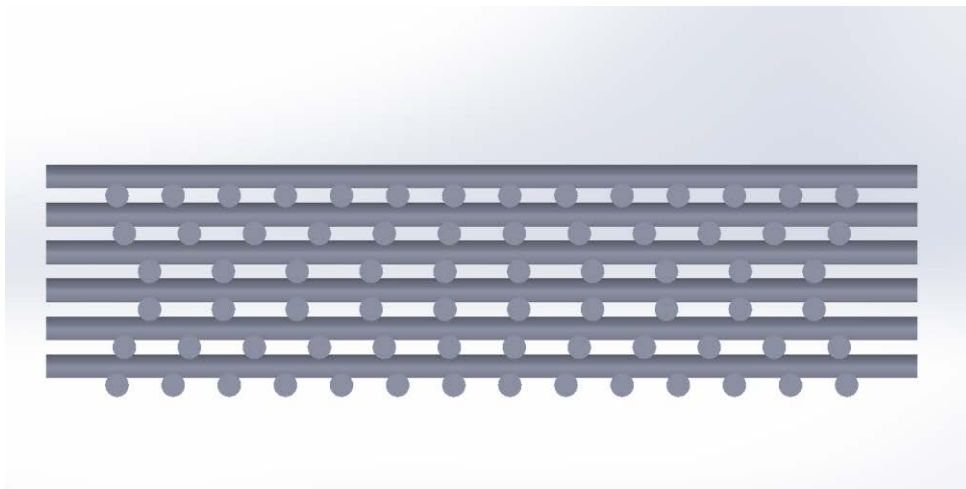


Figura 4.17. Sezione dello scaffold con gradiente di porosità. Dall'interno verso l'esterno la spaziatura tra gli struts parte da 550  $\mu\text{m}$ , passa a 700  $\mu\text{m}$ , per finire a 850  $\mu\text{m}$ .

In Tabella 4.1 è possibile vedere il livello di porosità a disegno (*designed porosity*) per ogni architettura di scaffold elaborata.

Architettura	<b>Esagonale 1</b>	<b>Esagonale 2</b>	<b>0°_90°</b>	<b>0°- 45°- 90°- 135°</b>	<b>Gradiente</b>
Porosità [%]	64,2	66,5	62,2	61,5	62,3

Tabella 1.1. Livello di porosità raggiunto per ogni tipologia di scaffold

### 4.3.2.3 Utilizzo di Rhinoceros 5 e del suo plug-in Grasshopper™ per generare i codici G-code

L'ultimo passo necessario per andare in macchina e stampare è tradurre i nostri modelli in istruzioni utili per la stampante.

Per questo fine abbiamo utilizzato il *software Rhinoceros5* e ci siamo serviti di un suo *plug-in*, ovvero *Grasshopper™*. Esistono dei *software open-source* che permettono di estrarre automaticamente i *g-code* dai modelli solidi, ma data la complessità del percorso scelto e la possibilità che questo fosse cambiato parecchie volte prima di trovare la configurazione corretta, programmi come *Slic3r* o simili non ci sono stati d'aiuto per l'estrazione dei codici macchina.

Primariamente è stato necessario definire un percorso macchina da seguire per quanto riguarda i nostri modelli di *scaffolds*, dato che l'estrusione del filamento nella macchina utilizzata avviene senza soluzione di continuità e dunque non è possibile andare a stampare i modelli "ideali" disegnati al CAD 3D, senza alcun bordo e solamente con i filamenti strettamente necessari alla realizzazione della geometria desiderata.

Sempre utilizzando AUTOCAD® dunque sono stati definiti i percorsi per realizzare i vari *layers*, per poi essere importati in *Rhinoceros5*.

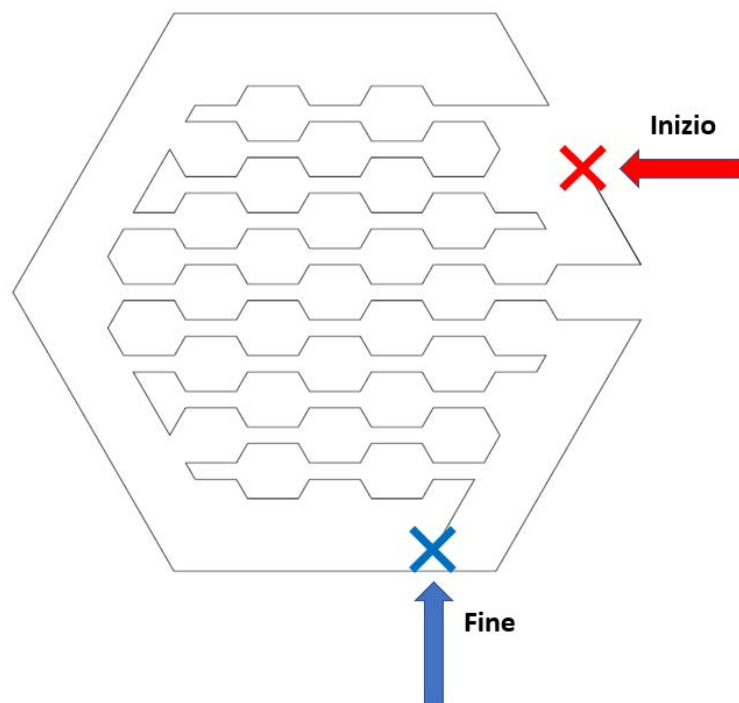


Figura 4.18. Percorso che è stato pensato per realizzare la geometria desiderata, con punto d'inizio e di fine del primo layer depositato.



*Grasshopper™* permette, tramite una successione di comandi a “blocchi”, di manipolare qualsiasi curva, superficie o solido che gli diamo in *input*.

In questa fase del lavoro si è scelto di pensare in 2D, perché più semplice e con maggiore flessibilità nel risolvere i problemi; quindi al programma sono state date in pasto le curve bidimensionali importate in *Rhinoceros5*.

Tipicamente le curve sono disposte casualmente nello spazio di lavoro, mentre noi abbiamo bisogno di disporle in uno spazio ben preciso, perché dopo le coordinate dei punti costituenti le curve stesse, saranno quelle date in pasto alla macchina.

In Figura 4.19 dunque si vedono i comandi di traslazione dati alla curva in forma di coordinate di un vettore, che è il vettore di traslazione, in base a dove la curva vogliamo sia disposta nello spazio:

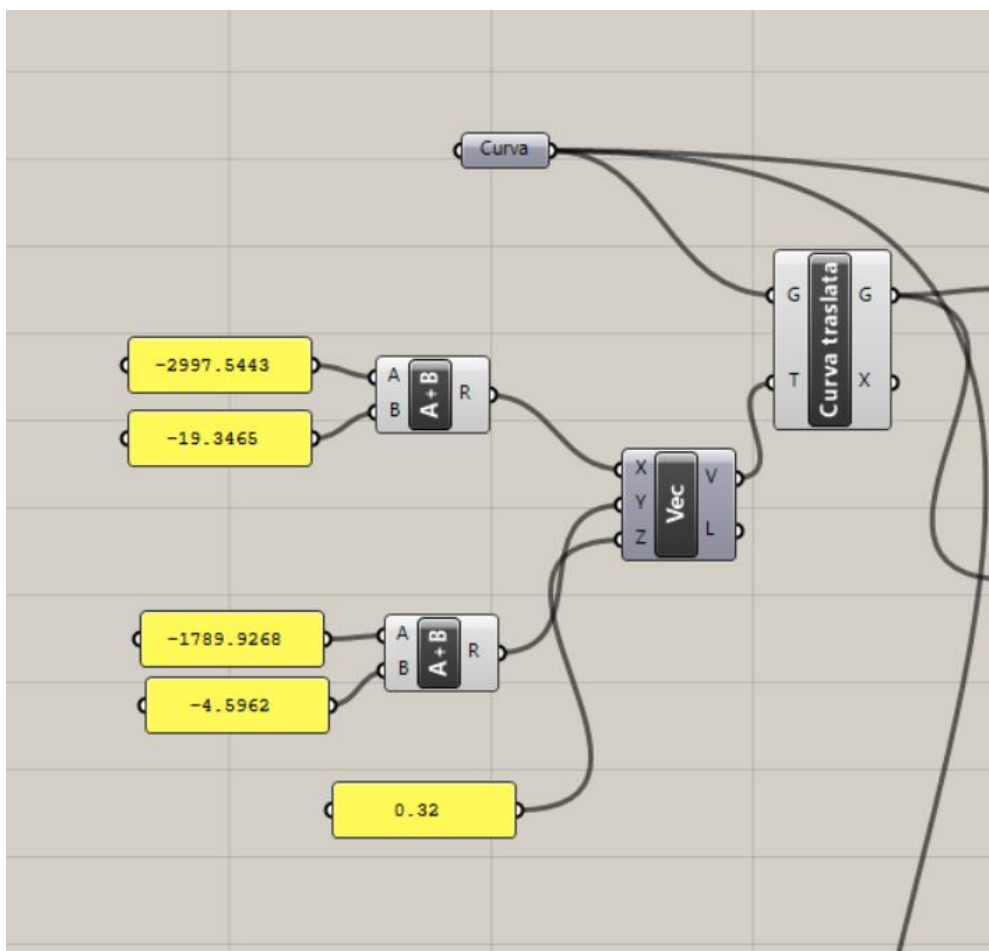


Figura 4.19. Visualizzazione dello schema a blocchi che permette la traslazione della curva dalla posizione in cui si trova una volta importata in *Rhinoceros5* alla posizione di interesse desiderata.

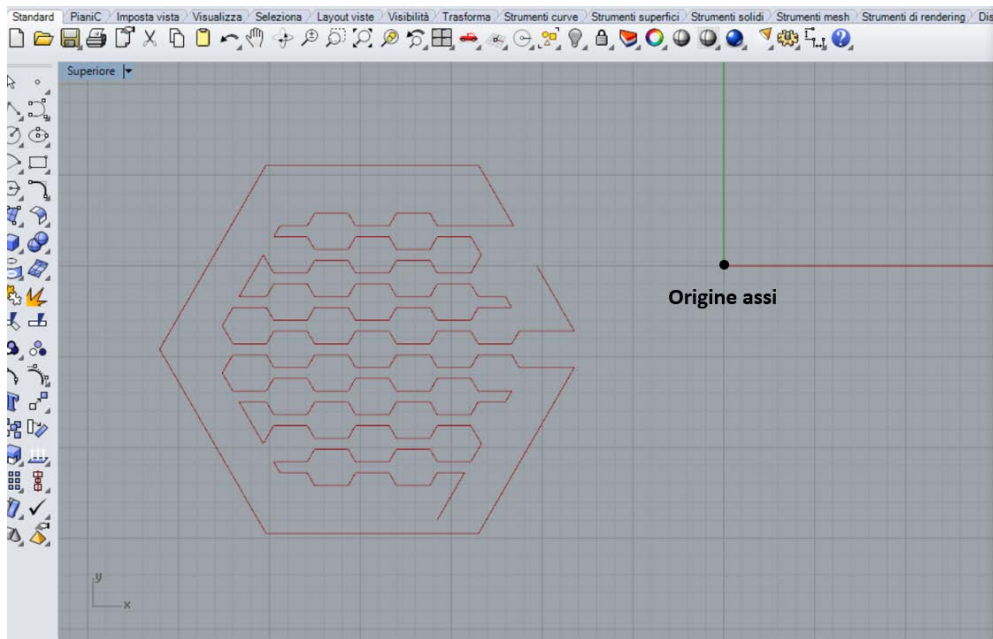


Figura 4.20. Curva posizionata nell'area di interesse.

Come si nota dalla schermata di Figura 4.19, la traslazione, sebbene stiamo lavorando con curve bidimensionali, include anche la componente z, che è fissata a 0,32 mm per ottenere una certa adesione dell'inchiostro al piano di stampa e per far sì che ci sia una minore variabilità di direzione che può assumere il filamento una volta estruso; in sostanza si ha un maggiore controllo della posizione del filamento.

In seguito, si pone un "blocco" che ci dà il controllo dei punti di inizio e fine del percorso, dato che è possibile che il *software* legga come punto di inizio quello che per noi è quello di fine e viceversa:

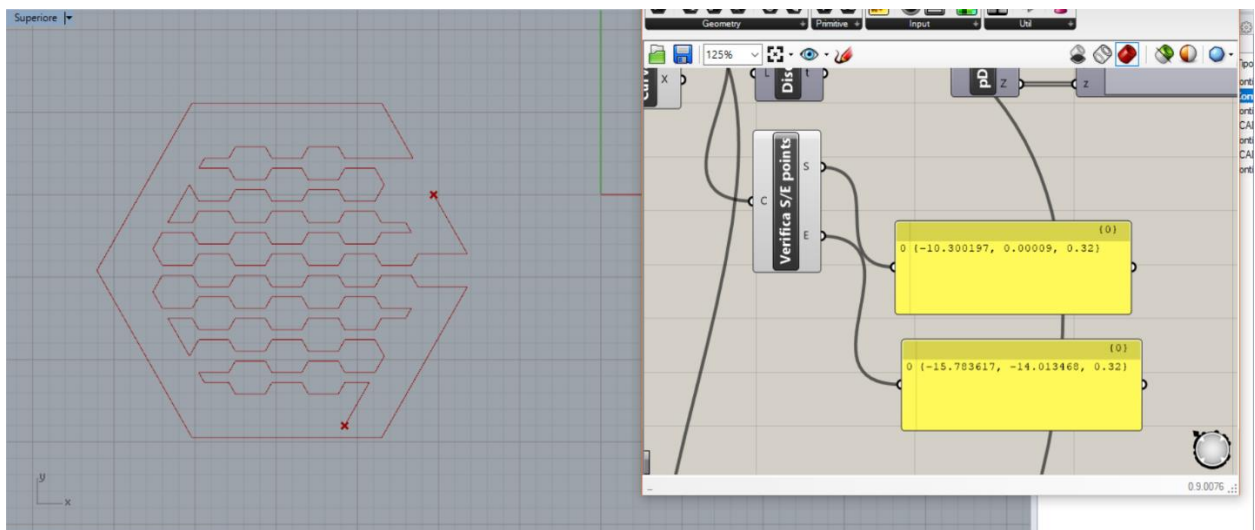


Figura 4.21. Questo blocco funziona da controllo sulla curva, ovvero se i punti di inizio e fine sono invertiti rispetto al percorso pensato per l'estrusione, è necessario provvedere a invertirli nuovamente.

Una volta eseguito questo controllo, si passa alla parte finale, ovvero l'estrazione del G-code: in questo approccio è stata fatta la scelta di evidenziare i punti di discontinuità del nostro percorso, dato che abbiamo a che fare con tratti rettilinei. Grazie ad una funzione presente nel programma, abbiamo dato in pasto ad una formula la lista dei punti estratta e abbiamo personalizzato l'output nel formato classico del G-code:

G1 X0.00 Y0.00 Z0.00 (5)

dove G1 sta ad indicare che l'estrusore si muoverà per coordinate assolute e X, Y, Z sono le coordinate del prossimo punto che dovrà raggiungere l'estrusore.

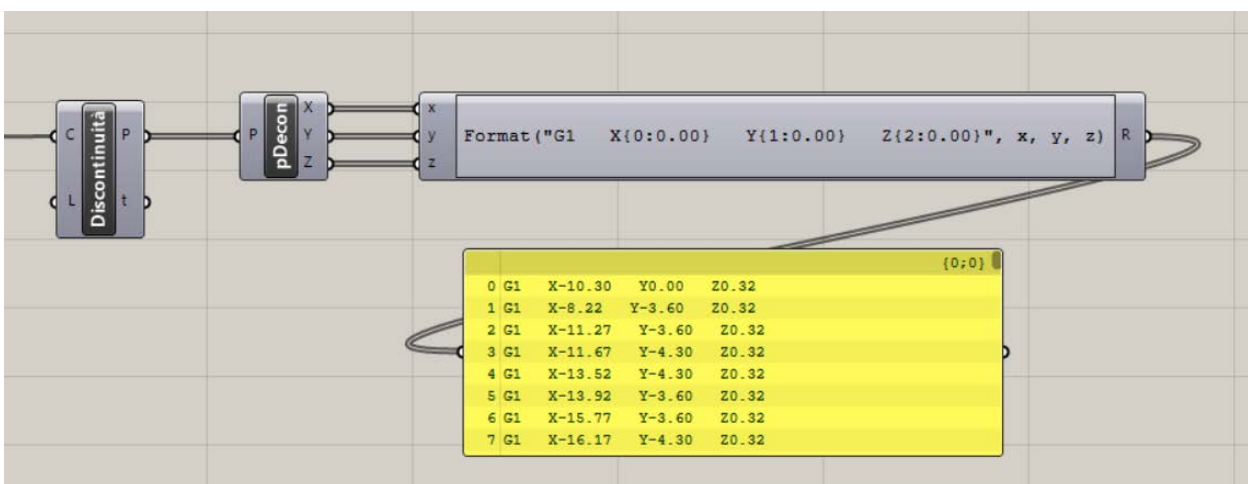


Figura 4.22. Forma in cui viene generato il G-code da inserire in macchina per il movimento dell'estrusore.

Grazie a questo schema a blocchi è stato possibile generare il primo strato, unitamente al secondo e al terzo, dato che grazie ad una funzione presente, è stato possibile ruotare le curve nello spazio di un qualsivoglia angolo.

Questo approccio è stato seguito per tutte e cinque le geometrie prese in considerazione.

### 4.3.3 Proof of concept: Gyroide da Direct Ink Writing

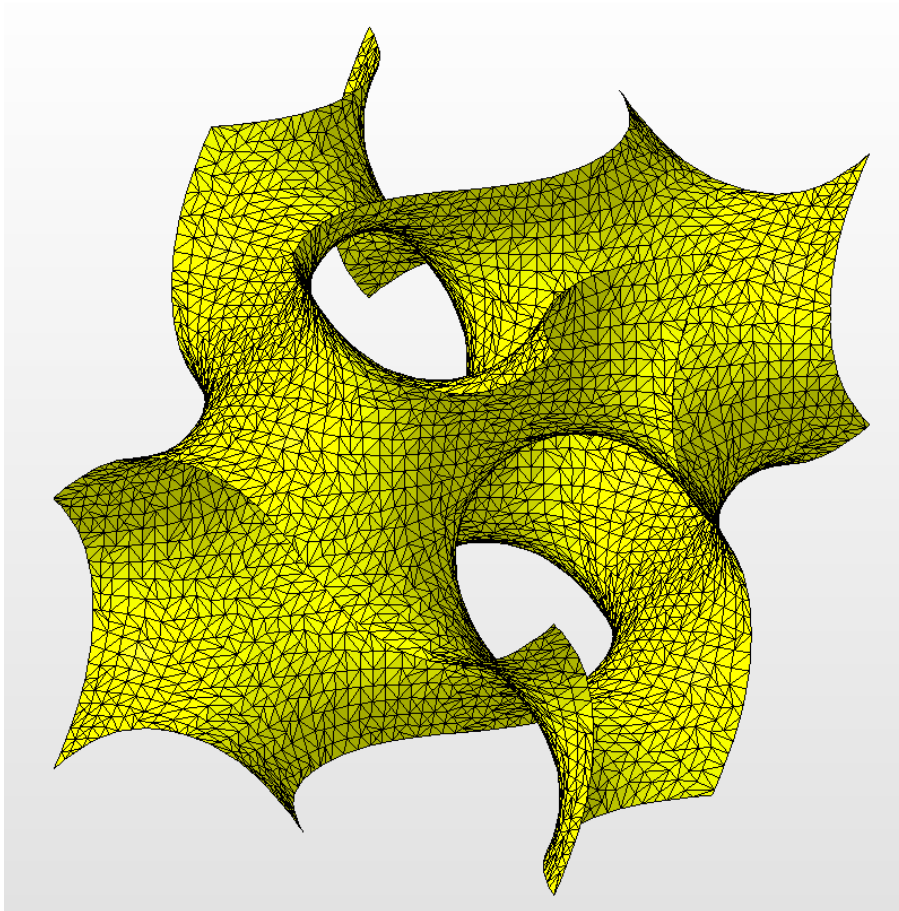
L'ISM (Implicit Surface Modeling) un valido strumento proposto recentemente per generare strutture cellulari costituite da una complessa architettura di superfici. Questa metodologia permette di disegnare facilmente architetture diverse per mezzo di una descrizione tramite un'equazione matematica, con libertà di inserire diverse morfologie dei pori e caratteristiche, incluso un gradiente nella dimensione dei pori stessi. Di recente, quindi, queste superfici, che vengono descritte da funzioni matematiche appartenenti alla

classe delle *periodic minimal surfaces*, hanno acquisito interesse nella progettazione di architetture per *scaffolds* ad impiego biomedicale [100] [101].

Un primo tentativo nella fabbricazione e caratterizzazione meccanica di questa tipologia di *scaffolds* basata sul TPMS (*triply periodic minimal surfaces*), ovvero il metodo che va a replicare nello spazio tridimensionale queste superfici che minimizzano l'area, è stato presentato da Rajagopalan e Robb [102].

Un particolare tipo di TPMS è l'architettura di *Gyroide*, visibile in Figura 4.23, caratterizzato dall'equazione matematica:

$$\cos(x) \cdot \sin(y) + \cos(y) \cdot \sin(z) + \cos(z) \cdot \sin(x) = 0 \quad (6)$$



*Figura 4.23. Mesh raffigurante l'unità base di un Gyroide visualizzata nell'ambiente di lavoro Autodesk® Netfabb.*

È stato dimostrato da Melchels et al. [103], che questa disposizione spaziale delle superfici può essere maggiormente bagnata e penetrata da sospensioni cellulari, avendo come risultato una più omogenea distribuzione e una più profonda colonizzazione

cellulare. Paragonato ad una schiuma con distribuzione di porosità *random*, ma con porosità totale confrontabile e simile distribuzione dei pori, il *Gyroide* ha dimostrato di essere dieci volte più permeabile, dovuto all'assenza di interconnessioni limitate in dimensione, come invece accade nella schiuma. Questi risultati suggeriscono ancora una volta che l'uso dell'Additive Manufacturing per la realizzazione di *scaffolds* può portare a una migliore distribuzione cellulare dopo la "semina", con nutrimento duraturo e apporto di ossigeno.

Tuttavia, questi metodi di progettazione del riempimento dello spazio tramite le TPMS, difficilmente possono essere trattati con tecniche di manifattura additiva basate sull'estrusione di filamento, come la DIW. Infatti le varie architetture che hanno a che fare con l'*Implicit Surface Modeling* sono tipicamente realizzate con metodi di manifattura additiva che vanno a fotosensibilizzare il materiale, come la stereolitografia (SLA) o il DLP (*Digital Light Processing*) o, parlando di polveri di metallo sinterizzate, l'SLS (*Selective Laser Sintering*) o l'SLM (*Selective Laser Melting*).

L'approccio innovativo sperimentato in questa tesi, è stato proprio andare nella direzione "difficile", ovvero quella di realizzare una TPMS tramite tecnica ad estrusione di filamento, la *Direct Ink Writing*, tramite il materiale che abbiamo presentato all'inizio, ovvero lo *sphene*, per testare ancora una volta il comportamento reologico del materiale nel mantenimento della forma, una volta estruso, e per verificarne le fattezze, una volta fatto il trattamento termico, per convertire la pasta preceramica in ceramico vero e proprio.

#### 4.3.3.1 Ottenimento delle curve descrittive il *Gyroide* ed estrazione del *G-code*

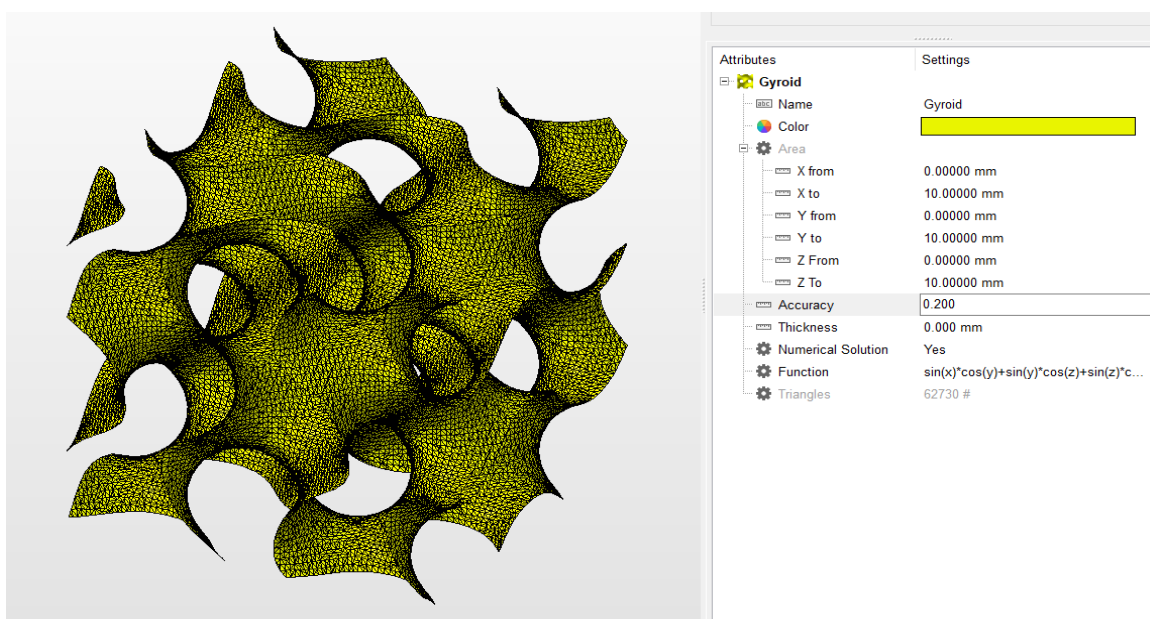


Figura 4.24. Impostazione parametri della mesh del Gyroide.

Il modello di *Gyroide* che è stato preso a riferimento, è stato quello fornito dal *software* Autodesk® Netfabb, di Figura 4.23: la superficie è stata replicata nello spazio fino a 10 mm su tutte e tre le direzioni, per comodità in un secondo momento nell'andare a scalare il tutto; la dimensione media del singolo elemento della mesh, fatta di elementi triangolari, è stata di 0,2 mm. Chiaramente, essendo necessario estrarre un percorso da far eseguire al nostro estrusore, lo spessore parietale della superficie assunto è stato nullo. I parametri relativi alla modellazione sono visibili in Figura 4.24.

Dopodiché, si è salvato il file in formato *.stl* e lo si è importato in ambiente *Rhinoceros5*. Una volta aperta la finestra di dialogo del *plug-in Grasshopper®*, si è dato al blocco *mesh* il riferimento della superficie appena importato in *Rhino*.

In seguito, grazie al comando *box* è stato creato un "volume di controllo" cubico che contiene il *Gyroide*: sia il *box* che la *mesh* sono stati collegati ad un fattore di scala, per modellare a proprio piacimento le spaziature interne alla superficie stessa, in base ai requisiti cui deve soddisfare lo *scaffold* in questione. Il *box* è necessario perché, con la successiva *feature*, *boxarray*, è possibile andare a replicare nelle tre direzioni dello spazio, x,y,z, la nostra unità *mesh*, di 10x10x10 mm<sup>3</sup>. Tuttavia il *software*, ancora vede le *mesh* replicate come delle unità "singole" e non collegate tra loro; quindi, tramite un'altra funzione di GH (*Grasshopper®*), *meshjoin*, andiamo ad unire tutte le *mesh* (Figura 4.26, ambiente di lavoro *Grasshopper®*).

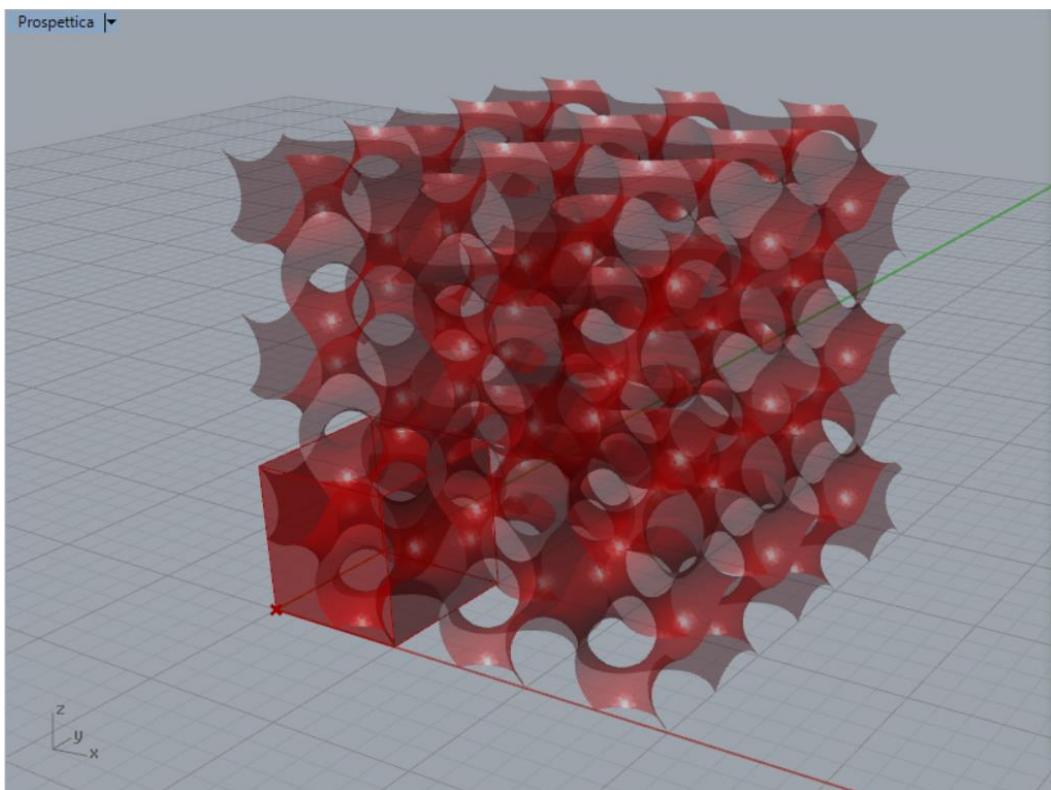


Figura 4.25. Visione del *box* che contiene l'unità di base della *mesh* e riproduzione nello spazio dell'unità base su x, y, z nell'ambiente *Rhinoceros5*.

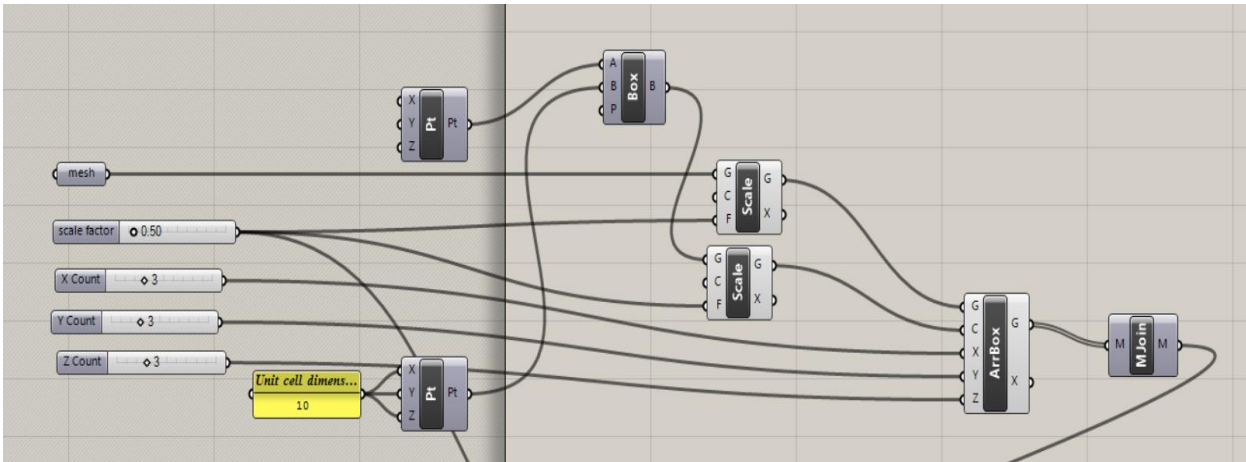


Figura 4.26. Schema a blocchi che permette di moltiplicare la mesh nello spazio x, y, z e unire le unità in un'unica mesh.

Ora non resta che sezionare con piani paralleli al piano (x,y) la mesh generata, dalla cui intersezione vengono trovate delle curve (curve di livello), che genereranno il percorso macchina che la stampante deve seguire per realizzare il Gyroide.

Tramite il comando *contour*, diamo in ingresso la *mesh* e, come secondo parametro, la distanza tra piani successivi che equivale a 0,32 mm, per le ragioni di cui al § 2.5.2.

Quello che il comando *contour* ha dato in *output* sono tutte le curve che i piani distanziati di 0,32 mm uno dall'altro hanno intersecato nel Gyroide.

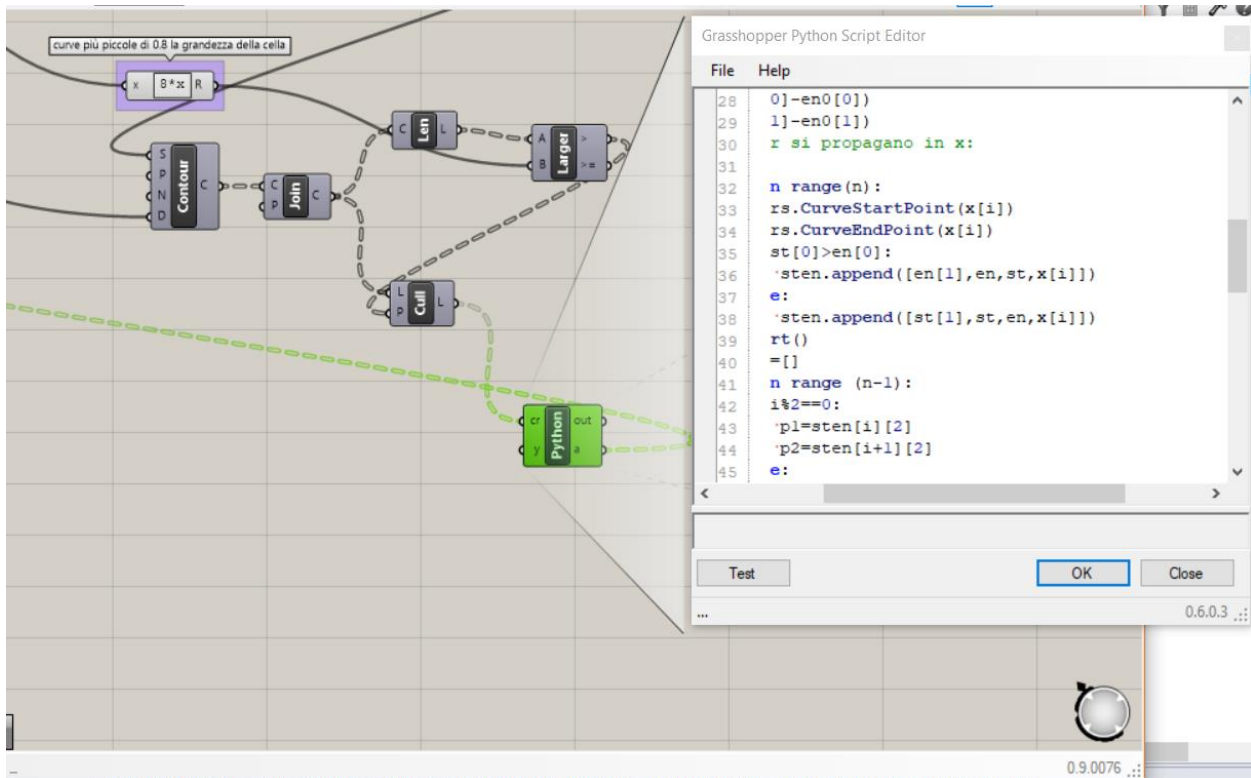


Figura 4.27. Estrazione delle curve del Gyroide tramite il comando *contour* e visualizzazione del codice scritto in Python per collegare tra loro le curve di uno stesso layer.

Purtroppo sono annesse anche delle curve “di bordo” che non risultano di interesse per la nostra applicazione, che andiamo ad eliminare tramite il comando *cull pattern* che va’ ad estrarre dalla lista solamente i percorsi di interesse, dandogli in ingresso un parametro di controllo, che può essere scelto in qualsivoglia modo.

In questo caso è stato scelto di tagliare dalla selezione le curve che hanno una lunghezza inferiore a 0,8 volte la dimensione della cella. A questo punto, tramite uno script scritto in Python, sono state unite con segmenti rettilinei le curve appartenenti allo stesso layer.

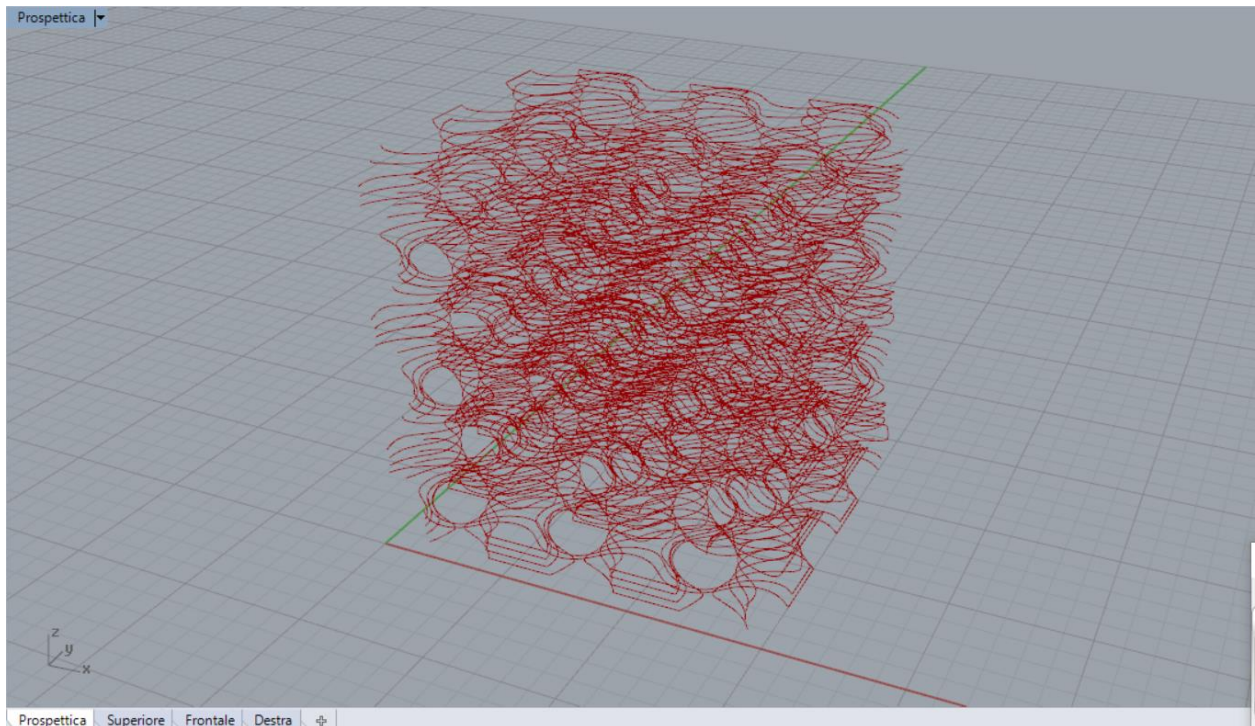


Figura 4.28. Visualizzazione delle curve unite di layer in layer tramite segmenti rettilinei.

L’ultimo passaggio per andare a definire il *G-code* da inserire in macchina è consistito nell’unione delle curve, quindi il passaggio dal livello  $n$  al livello  $n+1$ . Anche in questo caso è stato necessario ricorrere ad uno script, sempre creato in ambiente *Python*, per andare a far sì che, in autonomia, qualunque fosse l’orientamento delle curve, di *layer* in *layer*, e qualunque fosse la disposizione dei punti di inizio e fine della singola curva, il programma, una volta avute le curve in *input*, ci desse in *output* una curva unica, ovvero il percorso finale che deve compiere l’estrusore.

Questo è stato un passo assolutamente necessario perché sono stati fatti diversi tentativi di stampa e successiva cottura del *Gyroide*, per capire quali fossero le dimensioni che permettevano alla macchina di descrivere il percorso nel migliore dei modi, in accordo con la sua risoluzione. Ogni qualvolta, quindi, venivano cambiate le dimensioni della cella di partenza oppure veniva variato il numero di ripetizioni spaziali dell’unità, cambiavano le curve che i piani, distanziati di 0,32 mm uno dall’altro, andavano ad intersecare, con relativo cambiamento dei punti di inizio e fine curva, che potevano anche essere



diametralmente opposti dal *layer n* al *layer n+1*. Lo script quindi ci ha permesso, di volta in volta, di avere subito il percorso finale della macchina, una volta variata la configurazione del *Gyroide*.

La strategia numerica adottata è stata di far uscire l'estrusore di 4 mm in direzione x dalla sagoma del solido, una volta terminato il percorso della curva *n*-esima, dopodiché collegare un altro punto alla stessa coordinata x ma traslato in direzione y di altri 4 mm, sempre esternamente alla sagoma, per poi collegarsi al punto iniziale o finale della curva allo strato superiore, in base al fatto che il primo o il secondo sia più vicino al punto dove attualmente si trova l'estrusore.

Durante la fase di stampa, questo *offset* dei due punti che fanno da "ponte" tra un *layer* e il successivo, si è dimostrato idoneo affinché l'inchiostro non venga depositato troppo vicino al solido poroso, andando ad intaccare i *layer* di materiale che costituiscono fattivamente lo *scaffold*, che dopo sarebbero difficili da rimuovere rischiando di andare a danneggiare il resto della struttura.

Infine, per estrarre la successione di punti per il codice macchina, questa volta non è stato possibile evidenziare le discontinuità, dato che le curve non presentavano punti angolosi, quindi è stato necessario andare a dividere la curva in segmenti successivi, di lunghezza ridotta a tal punto da far sembrare la traiettoria non più una successione di spezzate ma un continuo bidimensionale. La lunghezza ritenuta idonea è stata di 0,20 mm.

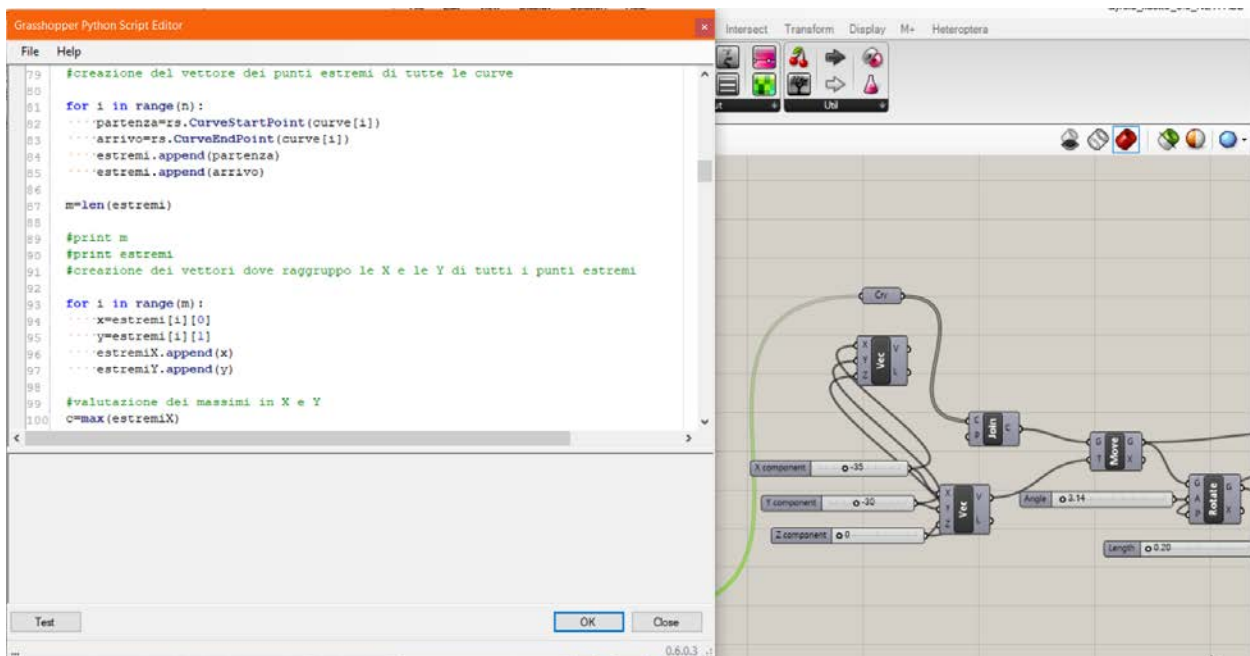
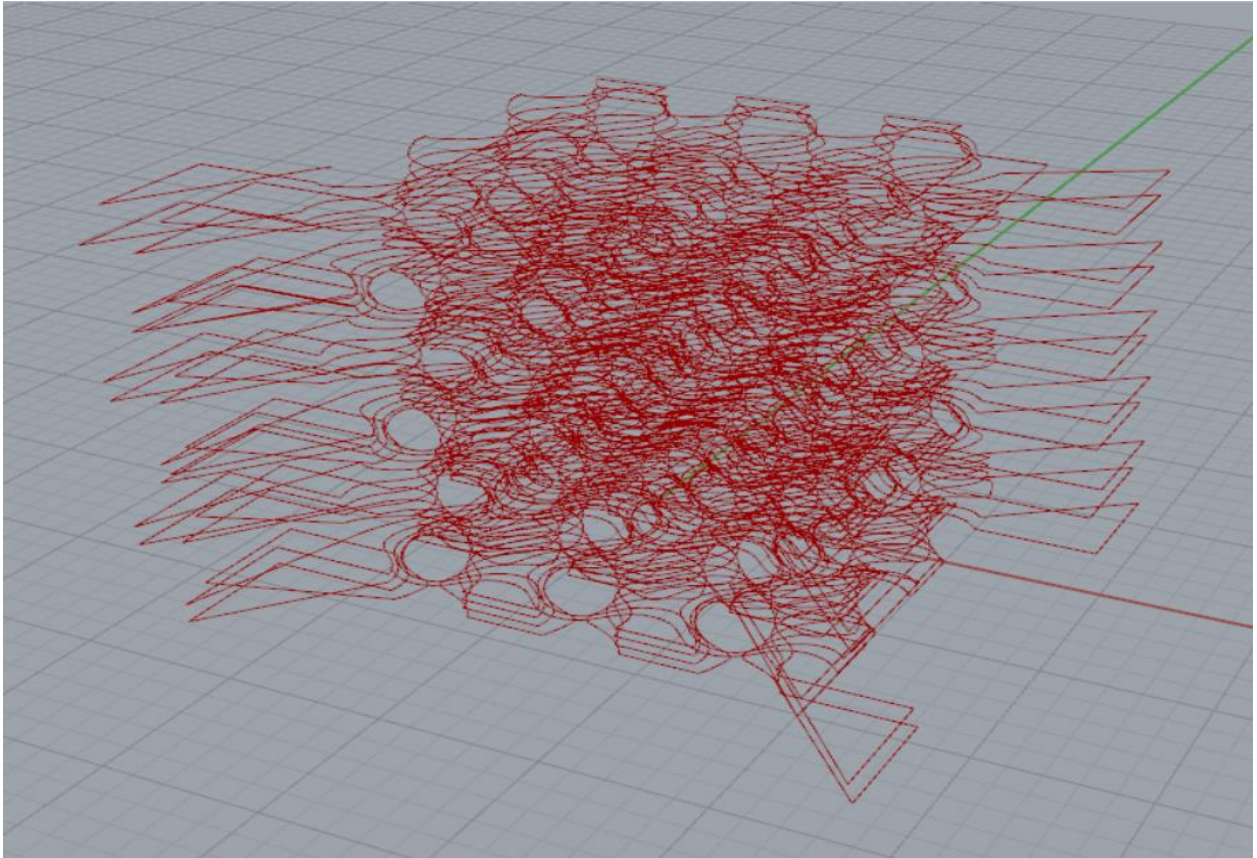
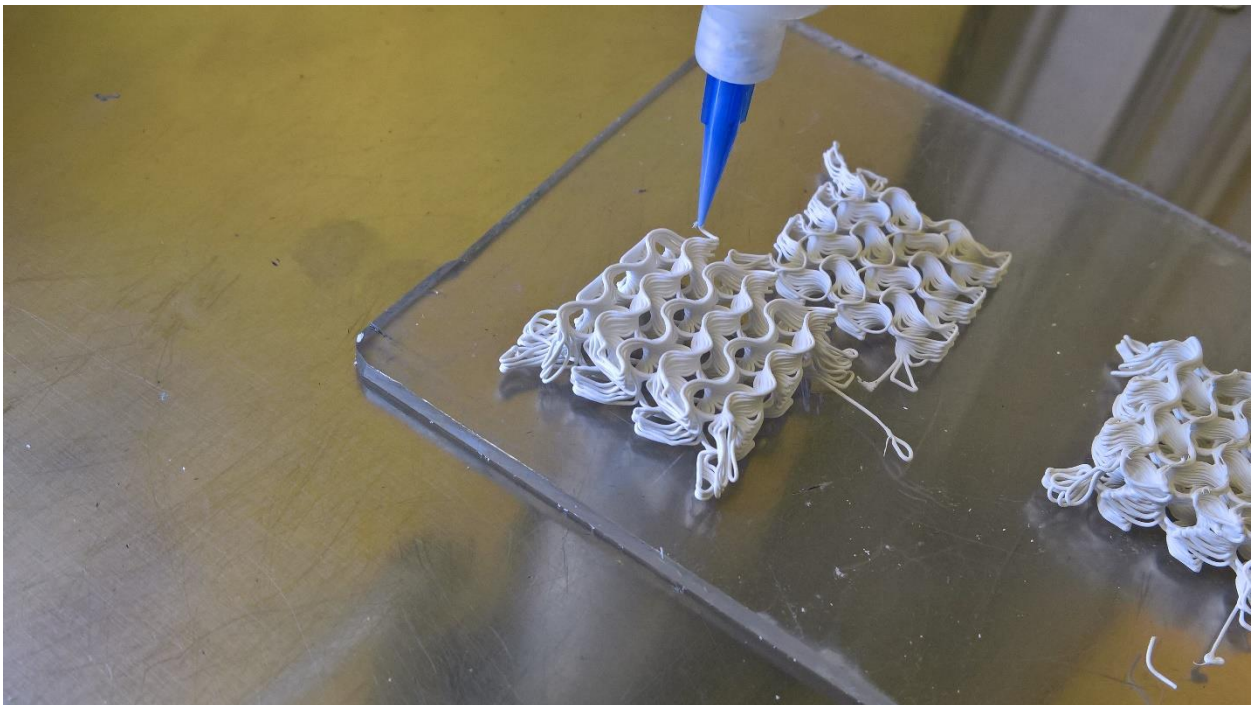


Figura 4.29. Codice scritto in Python, in ambiente di lavoro Grasshopper®, per definire la curva finale che l'estrusore deve descrivere, unendo tutti i layers.



*Figura 4.30. Visualizzazione in Rhinoceros5 del percorso macchina finale.*



*Figura 4.31. Estrusore in movimento nel processo di stampa del Gyroide. Quello visto in figura ha dimensioni finali di 30x30x30, con pori quindi molto grandi.*

### 4.3.4 Preparazione dell'inchiostro e stampa DIW

La corretta preparazione dell'inchiostro è fondamentale per riuscire poi ad estrarre il filamento che andrà a costituire gli *scaffolds*, strato per strato. In particolare, devono essere controllate le proprietà reologiche della pasta in modo che essa assuma un comportamento pseudoplastico, così da essere facilmente estrusa dall'ugello e da mantenere la forma, subito dopo, mediante essiccamento all'aria. I passaggi seguiti per l'ottenimento dell'inchiostro sono:

- la dissoluzione della polvere di MK in isopropanolo IPA, la cui percentuale volumetrica di partenza è pari al 30%;
- l'aggiunta di *fumed silica*;
- una volta disciolti completamente i primi due componenti, l'aggiunta del primo *filler* ceramico, la titania  $TiO_2$ , sotto forma di polvere nanometrica;
- infine il carbonato di calcio,  $CaCO_3$  precursore dell'ossido di calcio  $CaO$ , sotto forma di polvere micrometrica.

Dopo ogni step descritto, è consigliabile iniziare la mescolazione manualmente, per avere una pasta omogenea e far sì che il polimero preceramico sciolto possa legare bene tra loro le polveri ceramiche; l'obiettivo è, alla fine, quello di avere una pasta senza agglomerati, che possono inibire il fluire del materiale durante la fase di stampa. La soluzione viene miscelata in un mixer nel seguente modo: inizialmente per 3' 30" a 2000 rpm, aggiunta la *fumed silica* per 3' a 2000 rpm; successivamente per 2' a 2000 rpm per la titania e infine per altri 3' 30" per il  $CaCO_3$ . La formulazione utilizzata è riportata in Tabella 4.1, con l'aggiunta di 1,7 g di isopropanolo.

Per la fase di stampa vera e propria, innanzitutto, la stampante 3D deve essere attrezzata con tutti i componenti descritti in precedenza, poi, una volta impostati i parametri tramite il *display* di cui è dotata la macchina (velocità di flusso, velocità della macchina e altezza di stampa) e aperto il collegamento con l'aria compressa, si avvia la stampa. Il substrato utilizzato per la deposizione dei filamenti è un piatto in teflon; durante la stampa è possibile modificare la velocità di flusso e la pressione dell'aria compressa.

### 4.3.5 Essiccamento e sinterizzazione

Una volta realizzati gli *scaffolds* con la geometria desiderata, i campioni vengono essiccati all'aria per due giorni, così da far evaporare completamente il solvente (isopropanolo) utilizzato per disperdere i componenti tutti sotto forma di polvere. Le strutture poi vengono sottoposte ad un trattamento termico che prevede un'ora a 250 °C,

con rampa di 0,5 °C/min, tre ore a 550 °C, con rampa di 0,5 °C/min, un'ora a 650 °C, con rampa di 0,5 °C/min, tre ore a 850 °C, con rampa di 0,5 °C/min e infine tre ore a 1300 °C, con rampa di 0,5 °C/min.

### 4.3.6 Procedura di stampa DLP

La realizzazione di *scaffolds* tramite stereolitografia viene suddivisa in diverse fasi:

1. generazione del modello virtuale 3D da stampare e successivo inserimento nel computer collegato alla stampante;
2. preparazione della soluzione contenente la polvere di vetro WDE e una resina acrilica fotosensibile commerciale, usata come legante sacrificale;
3. miscelazione dei componenti, mettendo il contenitore in un mixer per 10 minuti a 2000rpm;
4. pulizia tramite isopropanolo e rimozione della polvere dai componenti, mostrati in Figura 4.4 (è quella dove ci sono i componenti della DLP); posizionamento, adesione e messa in bolla della vaschetta in PDMS; si effettua lo *Zero Setting* della vaschetta in PDMS seguendo le istruzioni fornite dall'apposito comando nel software di gestione;
5. apertura del file *.stl* contenente il modello che si vuole stampare, *slicing* della struttura da stampare, scelta dei tempi di esposizione e avvio della stampa. Prima di procedere con la stampa dell'oggetto completo bisogna controllare l'adesione alla piastra di costruzione dei primi 15 *layers*;
6. rimozione degli *scaffolds* realizzati dall'apposita piattaforma, pulizia in opportuno solvente, nel nostro caso isopropanolo, tramite gli ultrasuoni per 15 minuti e asciugatura in aria per un giorno per far evaporare tutto il solvente utilizzato per la pulizia;
7. trattamento termico, con lo scopo di eliminare il legante sacrificale, che avviene intorno ai 500 °C, e far sinter-cristallizzare la polvere di vetro per conferire agli *scaffolds* le proprietà meccaniche desiderate.

#### 4.3.6.1 Preparazione della miscela

Come già accennato in precedenza, la tecnica stereolitografica richiede l'utilizzo di un polimero fotosensibile: in queste prove sperimentali si è scelto per questo scopo la resina acrilica commerciale *Standard Blend* di FUN TO DO®. In Tabella 4.2 riportiamo la composizione della miscela stampata.

	Vetro [g]	Resina [g]
Miscela stampa WDE	12	8

Tabella 4.2. Quantità dei singoli componenti in peso per ottenere l'inchiostro desiderato.

Innanzitutto viene preparato il *filler* vetroso secondo le modalità descritte in §4.1.2; è necessario evitare la possibile presenza di agglomerati nelle soluzioni sintetizzate, ma soprattutto perché lo spessore di ogni *layer* stampato è pari a 25  $\mu\text{m}$ . I componenti vengono aggiunti nel seguente ordine: prima si pesa il solvente e poi il *filler*, fino a che non si raggiunge la viscosità giusta per la soluzione. La miscelazione avviene tramite mixer, per 15 minuti, a 2000rpm. Ottenere una soluzione omogenea è fondamentale per riuscire poi a stampare gli *scaffold*, realizzati strato per strato. La presenza infatti di agglomerati può causare *scattering* della radiazione UV, impedendo la reticolazione di qualche *layer*, l'adesione dell'oggetto alla piattaforma di costruzione e di conseguenza il possibile attaccamento di materiale consolidato al fondo della vaschetta in PDMS che potrebbe così rompersi. La mancata dispersione omogenea di polvere ceramica può anche far sì che questa si accumuli sul pelo della resina liquida, dunque i primi strati di materiale polimerizzato o i primi *scaffolds* potrebbero essere più ricchi di polvere, a scapito dei successivi *layers* o strutture stampate nelle prove a seguire.

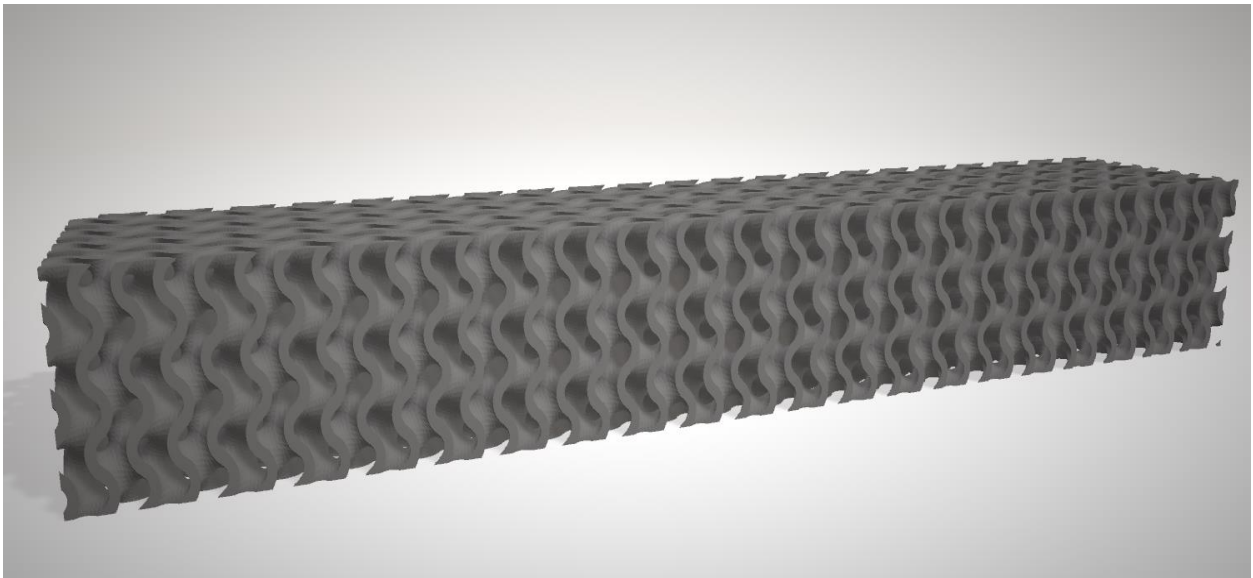
#### 4.3.6.2 Generazione del modello virtuale 3D e stampa SL

Come espresso in precedenza, l'obiettivo di questa tecnica di stampa 3D è riuscire a realizzare con il vetro precedentemente citato, due barrette per il test di flessione a 3 punti, realizzandole della medesima porosità solamente con una distribuzione di materiale diversa. Infatti la prima presenterà una porosità costante lungo tutto il suo sviluppo in altezza, mentre l'altra presenterà un gradiente di porosità positivo dalle estremità procedendo verso il centro.

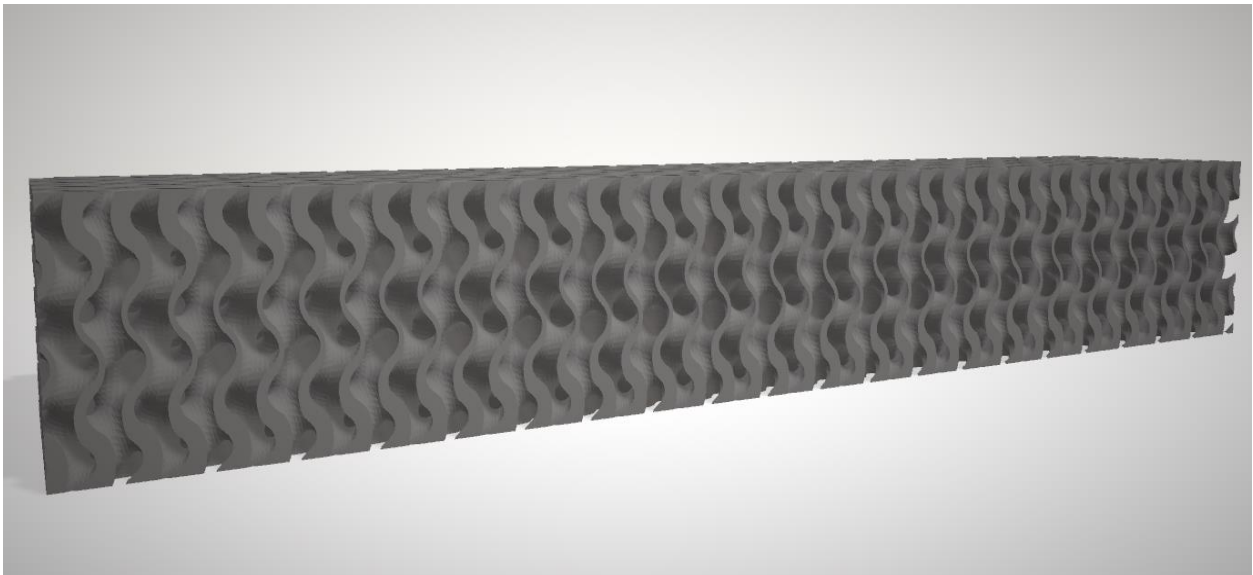
La forma che si è scelto di realizzare è quella di un *Gyroide* (*Schoen's Gyroid*), dove l'unità base si replica nello spazio per quelle che sono le dimensioni della barretta: 42x8x6 (lunghezza; profondità; altezza); lo scopo è andare a verificare che, sottoposte al test flessionale, ci sia una resistenza meccanica diversa, in favore della barretta a porosità variabile, perché il modello è stato realizzato pensando a "concentrare" il materiale alle estremità e quindi a spostare l'inerzia maggiormente dalla parte delle "fibre tese" del nostro modello di trave.

L'approccio che è stato seguito per realizzare i due *scaffolds* è stato nell'ambito delle TPMS (*Triply Periodic Minimal Surfaces*), in particolare si è scelto di seguire il ragionamento proposto da Savio, Meneghello, Concheri [104].

Grazie a questo metodo sono stati ottenuti due *Gyroidi*, di densità 60%, il secondo dei quali avente un gradiente di porosità che si articola con lo spessore come mostrato in Figura 4.33:



*Figura 4.32. Modello 3D del Gyroide a porosità costante.*



*Figura 4.33. Modello 3D del Gyroide a porosità variabile. È visibile il gradiente di porosità nelle "pareti" verticali dell'oggetto, che nel mezzo risultano molto più sottili, mentre all'esterno sono più spesse.*

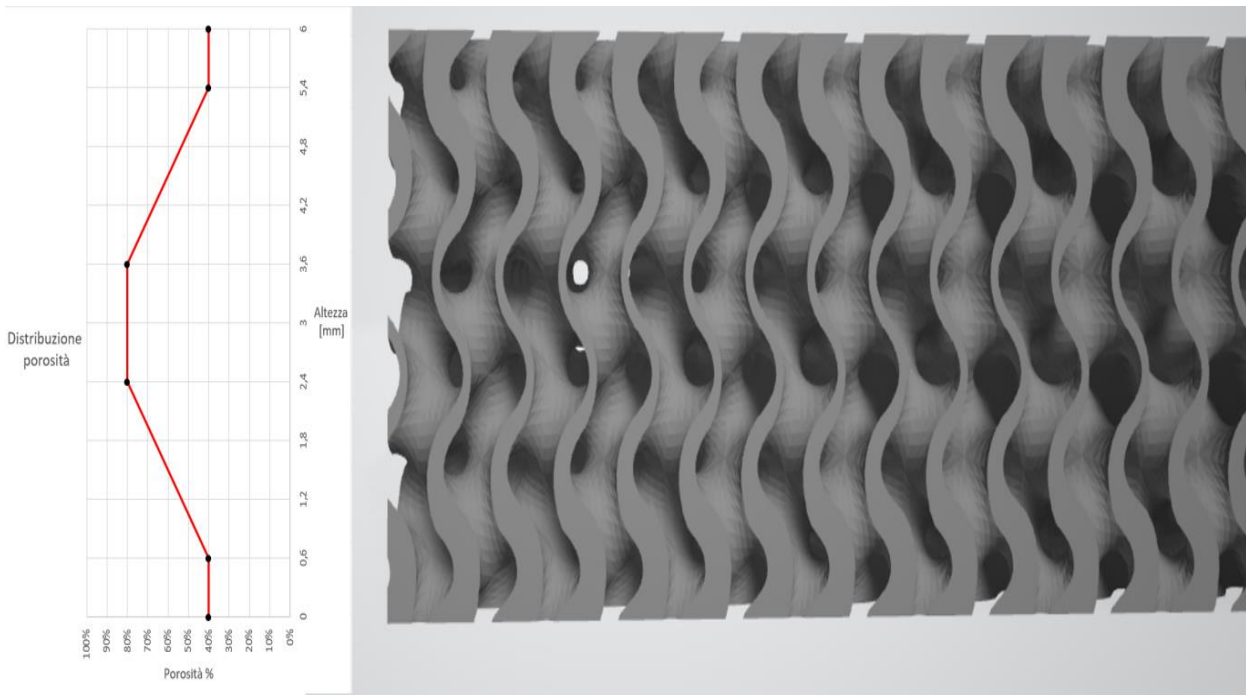


Figura 4.34. Grafico che ci mostra l'andamento della porosità con lo spessore dell'oggetto.

La stampa avviene solo dopo la pulizia dei componenti della macchina e la calibrazione della camera in PDMS, utilizzata come contenitore della soluzione, seguendo i passaggi indicati nel comando “Zero Settings” del programma *Printer 3DLP* collegato alla stampante. Tramite il *software* di gestione, all'oggetto è possibile aggiungere la base, di qualsivoglia spessore: questo accorgimento permette di rimuovere più facilmente l'oggetto dal supporto cui rimane attaccato, oltre a minimizzare il suo danneggiamento nella rimozione; purtroppo nel nostro caso, dato il test meccanico da svolgere, la base avrebbe portato a “sporcare” i risultati, poiché sarebbe cambiata l'inerzia di entrambi i solidi. È stata prestata molta cura, quindi, alla rimozione degli oggetti. Tuttavia il *software* vuole comunque l'inserimento di una sorta di “base”, che corrisponde ad un determinato numero di *layers* che deve essere indicato, nel nostro caso di cinque.

Successivamente si effettua lo *slicing* dello *scaffold* direttamente dalla finestra di gestione della stampante, come mostrato in Figura 4.35: l'oggetto da realizzare viene suddiviso in strati, in modo da controllare la progettazione dello *scaffold*, affinché ogni *layer* successivo venga depositato sul precedente senza interruzioni.

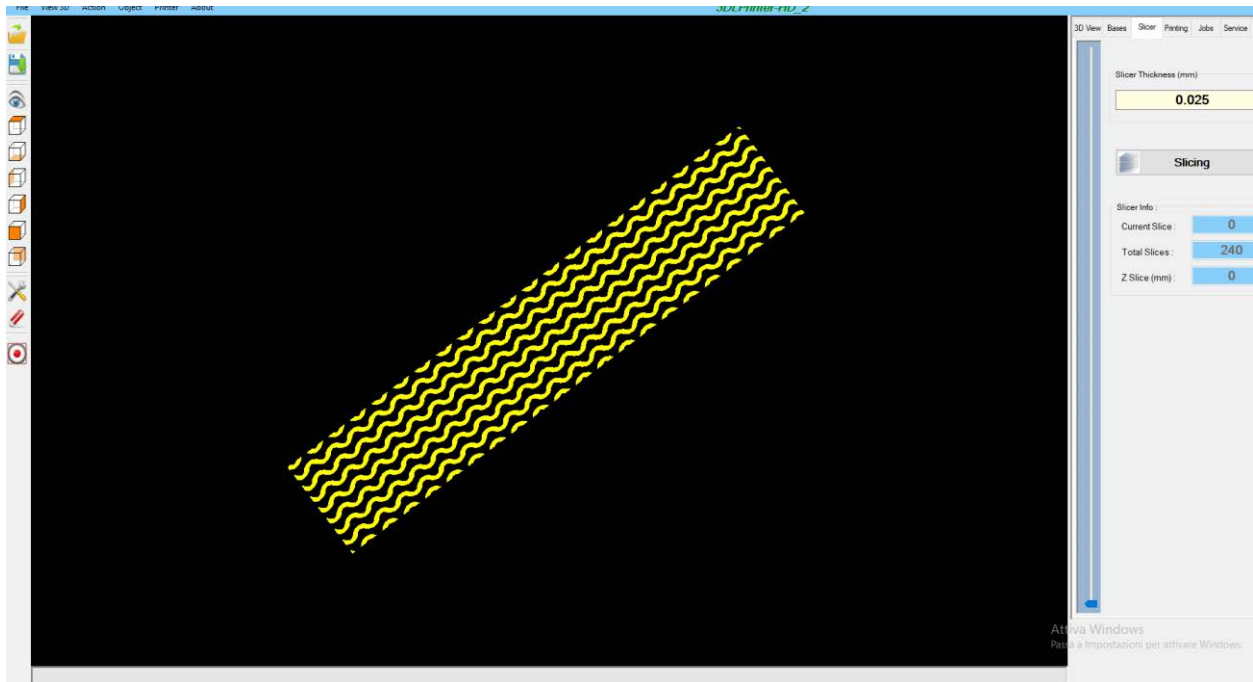


Figura 4.35. Schermata per lo slicing del programma Printer 3DLP, dove è possibile vedere la conformazione di ogni singolo layer che viene stampato.

I parametri utilizzati, dopo diversi tentativi, per la realizzazione delle due tipologie di *scaffolds*, sono rappresentati in Tabella 4.3. Il tempo di esposizione è il medesimo per entrambi gli oggetti, fatta eccezione per il tempo di esposizione delle “basi”: infatti risulta minore il tempo di esposizione scelto per il *Gyroide* variabile rispetto a quello omogeneo, questo perché, essendo già di per sé presente maggiore quantità di materiale da fotosensibilizzare nell’oggetto con il gradiente di porosità, dato che alle estremità la porosità è inferiore, esercitare un tempo di esposizione pari al *Gyroide* omogeneo sarebbe significato accumulare troppo materiale, a scapito di rendere non visibili le porosità in superficie ed avere un piccolo strato di materiale non poroso. Per ogni campione ottenuto, il trattamento di pulizia consiste in 15 minuti agli ultrasuoni immerso in isopropanolo.

	Tempo di esposizione base [s]	Tempo di esposizione oggetto [s]
<i>Gyroide</i> omogeneo	1,5	1,5
<i>Gyroide</i> variabile	1,2	1,5

Tabella 4.3. Tempi di esposizione di base e oggetto per le diverse tipologie di scaffold.



### 4.3.6.3 Essiccamento e sinterizzazione

Una volta realizzati gli *scaffolds* con la geometria desiderata, i campioni vengono lasciati ad asciugare per 24 ore all'aria, in modo che tutto il solvente utilizzato per la pulizia se ne vada; dopodiché vengono sottoposti a trattamento termico, che prevede tre ore a 500 °C, con rampa di 1 °C/min e un'ora a 1050 °C, con rampa di 3 °C/min.

Come substrato viene scelto un refrattario ricoperto di polvere di allumina per evitare l'adesione dei campioni.

### 4.3.7 Misure di densità e porosità con il picnometro

Su ogni tipologia di *scaffold*, stampati mediante DLP e DIW, vengono effettuate tre misure di densità: densità geometrica, densità apparente e densità vera. La misura di densità geometrica si ottiene dividendo la massa del campione per il suo volume geometrico, calcolato mediante un calibro. Le misure di densità apparente e vera si ricavano servendosi di un picnometro.

#### 4.3.7.1 Densità geometrica

Il volume di ogni *scaffold* viene calcolato dopo aver preso le misure con il calibro di altezza, larghezza e lunghezza. I campioni vengono in seguito pesati con una bilancia analitica elettronica di precisione, con risoluzione SI 0,1 mg. Per ottenere il valore di densità geometrica si deve calcolare il rapporto tra massa e volume di ogni *scaffold*:

$$\rho_g = \frac{m}{V_G} \quad (6)$$

- $\rho_g$ : densità geometrica [g/cm<sup>3</sup>];
- $m$ : massa campione [g];
- $V_G$ : volume geometrico [cm<sup>3</sup>].

#### 4.3.7.2 Densità apparente

Il volume misurato tramite il picnometro è quello del *bulk* e delle porosità chiuse, viene quindi esclusa la porosità aperta dove il gas di elio riesce ad entrare. Il valore di densità apparente ottenuto è:

$$\rho_a = \frac{m}{V_G - V_{PA}} \quad (7)$$

- $\rho_a$ : densità apparente [g/cm<sup>3</sup>];
- $V_{PA}$ : volume occupato dalla porosità aperta [cm<sup>3</sup>].

#### 4.3.7.3 Densità vera

Per concludere la caratterizzazione è necessario ottenere il valore di densità escludendo anche la porosità chiusa dal calcolo del volume. Per fare ciò, le misurazioni col picnometro vengono effettuate sui campioni dopo essere stati polverizzati mediante un mortaio d'agata. Il valore di densità vera che si ottiene è quindi:

$$\rho_t = \frac{m}{V_G - V_{PA} - V_{PC}} \quad (8)$$

- $\rho_t$ : densità vera [g/cm<sup>3</sup>];
- $V_{PC}$ : volume occupato dalla porosità chiusa [cm<sup>3</sup>].

#### 4.3.7.4 Misure di porosità

Attraverso i valori ottenuti di densità è possibile ricavare la stima della porosità di ogni materiale. Infatti la densità geometrica tiene conto della porosità totale, ovvero di quella aperta e di quella chiusa. La densità apparente, misurata a partire dallo *scaffold* con il picnometro, tiene conto solo della porosità chiusa. Infine, la densità vera è la densità delle polveri, ovvero senza porosità. Tramite le seguenti formule, dopo aver calcolato i valori delle densità, è possibile ricavare le informazioni sulla porosità dei campioni:

$$P_{aperta} = 1 - \frac{\rho_g}{\rho_a} \quad (9)$$

$$P_{totale} = 1 - \frac{\rho_g}{\rho_t} \quad (10)$$

$$P_{chiusa} = P_{totale} - P_{aperta} \quad (11)$$

- $P_{aperta}$ : porosità aperta;

- $P_{chiusa}$ : porosità chiusa;
- $P_{totale}$ : porosità totale.

I valori di densità permettono di fare delle osservazioni sui materiali presi in esame. Infatti, ad esempio, un valore teorico di porosità totale uguale a zero indica un materiale completamente denso. La porosità aperta (o efficace) è quella che permette il passaggio di un fluido, è quindi quella relativa ai pori interconnessi tra loro. Quindi se si vuole ottenere un materiale permeabile, è necessario avere un'alta percentuale di porosità aperta. Infine, la porosità chiusa è quella non interconnessa, che quindi non permette il passaggio di fluidi, ma rappresenta una discontinuità nel materiale massivo.

### 4.3.8 Prove di compressione

Gli *scaffolds* ottenuti dalla stampa DLP e DIW vengono infine caratterizzati dal punto di vista delle proprietà meccaniche, mediante una INSTRON® Tensile Testing Machine MODEL 1121.

In questo caso le prove meccaniche svolte sono due: la prova di compressione e la prova di flessione a tre punti. Nella prova di compressione, ogni campione viene posizionato al centro del supporto inferiore, previa misurazione dell'area della faccia soggetta a compressione; l'estremità superiore dello strumento viene fatta scendere, durante la prova, con una velocità controllata di 0,5 mm/min. I valori della forza istantanea e della forza massima, che porta a rottura, vengono misurati in tempo reale dalla cella di carico.

### 4.3.9 Diffrazione a raggi-X

Per effettuare le misurazioni di diffrazione a raggi X (XRD) è necessario preparare i campioni sotto forma di polveri fini. La polvere di ogni campione viene disposta nell'apposito portacampioni d'acciaio e accuratamente compatta e livellata in modo tale che la superficie risulti planare e senza discontinuità. Infine il portacampioni con la polvere viene inserito dentro l'apposito supporto nel diffrattometro, per poi iniziare la misurazione. La diffrazione a raggi X viene effettuata con un diffrattometro BRUKER D8 ADVANCE, con parametri di *setup* che prevedono un range di scansione  $2\theta$  da  $8^\circ$  a  $70^\circ$ , con avanzamento di  $0,05^\circ/\text{step}$  e un tempo di analisi pari a  $1\text{ s}/\text{step}$ . Il tubo radiogeno prevede un'alimentazione ad una tensione di 40 kV e una corrente di 40 mA. Gli spettri di diffrazione ottenuti vengono analizzati con il *software Match!*® mediante l'ausilio di un

*database* (PDF-2) contenente dei modelli di riferimento, al fine di identificare le fasi cristalline presenti.



# Capitolo 5

## Risultati e discussione: *scaffolds* da DIW (*Direct Ink Writing*)

*In questo capitolo vengono presentati e discussi i risultati relativi al confronto topologico tra le diverse tipologie di scaffolds realizzati per DIW. Vengono misurate la variazione volumetrica, in seguito a trattamento termico, la densità e la porosità geometrica, apparente e vera, grazie alle misure effettuate con il picnometro. Verranno presentate le risultanze sperimentali delle prove di compressione e come reagiscono diversamente le diverse strutture realizzate; verranno visualizzate le interazioni tra i filamenti delle diverse architetture, visibili tramite microscopio ottico e microscopio elettronico a scansione (SEM).*

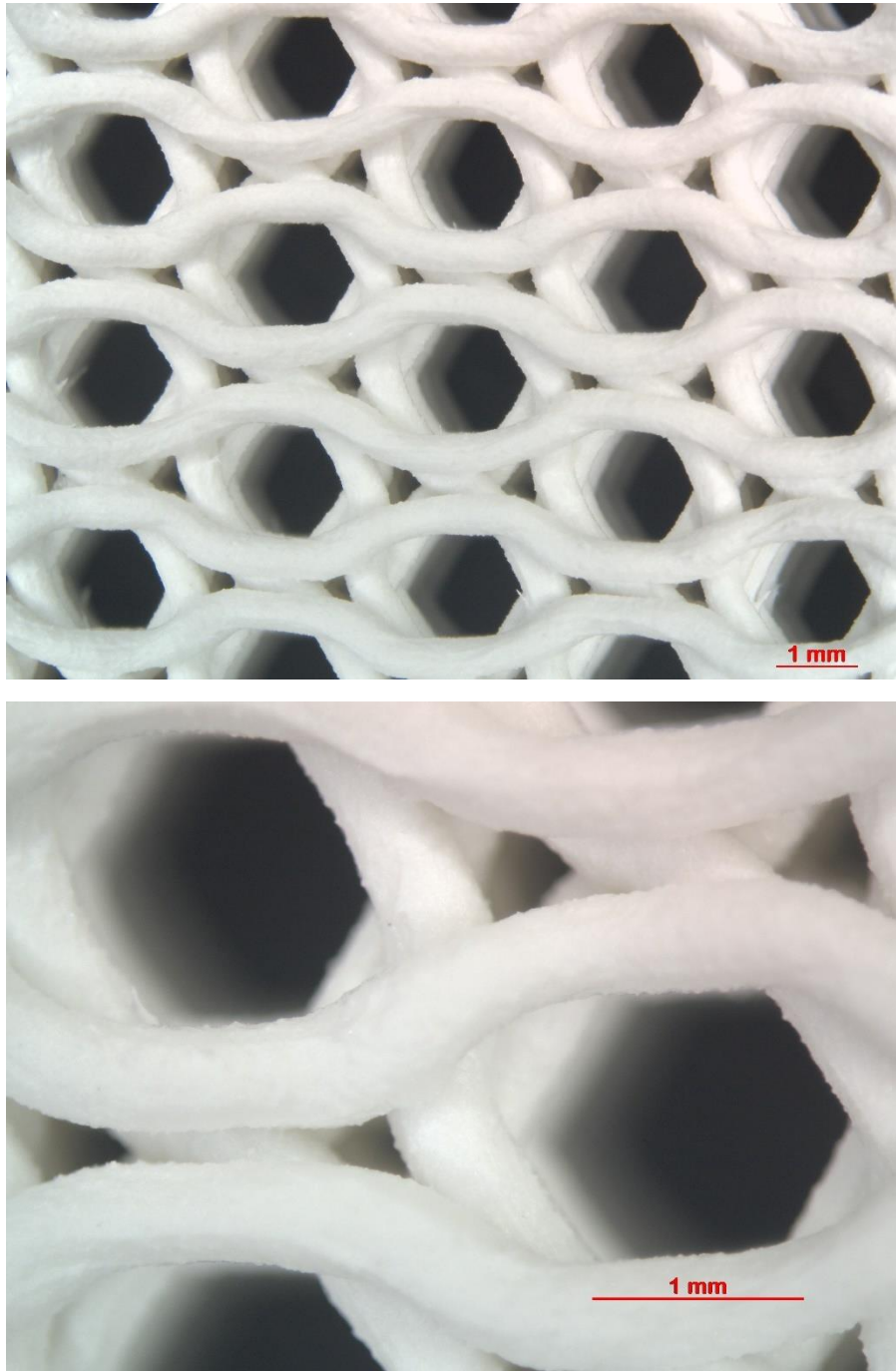
### 5.1 Realizzazione di *scaffolds*

La procedura e la composizione dell'inchiostro, per realizzare gli *scaffolds* mediante stampa DIW sono state presentate ai §§4.2 e 4.3.

Sarà possibile vedere come, con lo stesso *G-code* dato in macchina, è possibile ottenere degli *scaffolds* diversi tra loro semplicemente variando i parametri di estrusione, come pressione agente a monte dell'ugello e velocità di azione della stampante: questo è sintomo del fatto che il processo di stampa DIW presenta una bassa ripetibilità, a parità di macchina utilizzata e a parità di ambiente che circonda le operazioni di stampa.

In seguito le strutture verdi (precedenti al trattamento termico) vengono analizzate al microscopio ottico ed elettronico, per individuare eventuali difetti o cricche dovuti al processo di stampa e alla successiva manipolazione. Inoltre è possibile vedere quanto le strutture risultino fedeli al modello 3D che è stato creato e successivamente lanciato in macchina per eseguire la stampa e quanto effettivamente si notino le differenze da una tipologia di *scaffold* all'altra: infatti nel processo di stampa i limiti fisici della macchina dovuti alle inerzie che questa si porta dietro quando subisce un brusco cambio di

direzione fanno sì che ciò che è stato pensato idealmente al CAD sia estremamente difficile da replicare nella realtà.

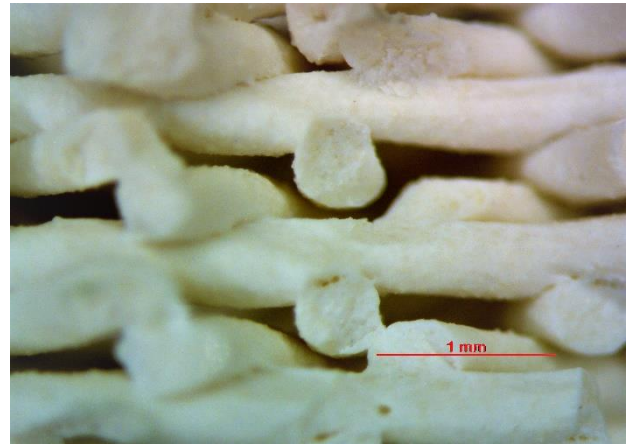
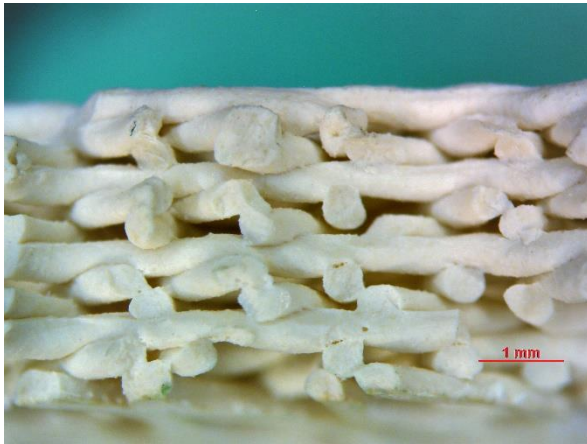


*Figura 5.1. Micrografie al microscopio ottico, con vista dall'alto a diversi ingrandimenti, dello scaffold verde, prima del trattamento termico, appartenente alla prima tipologia di reticolo*

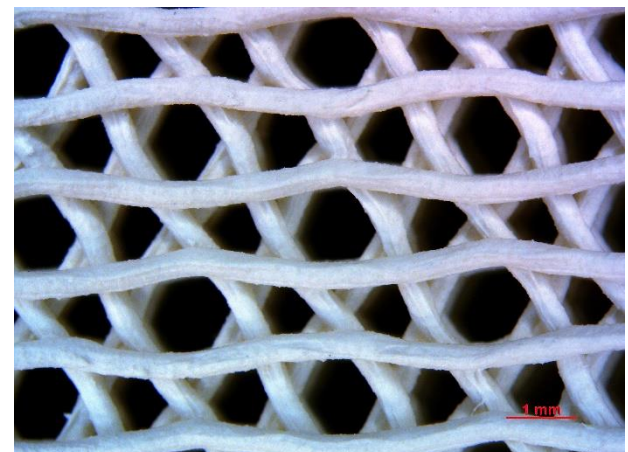
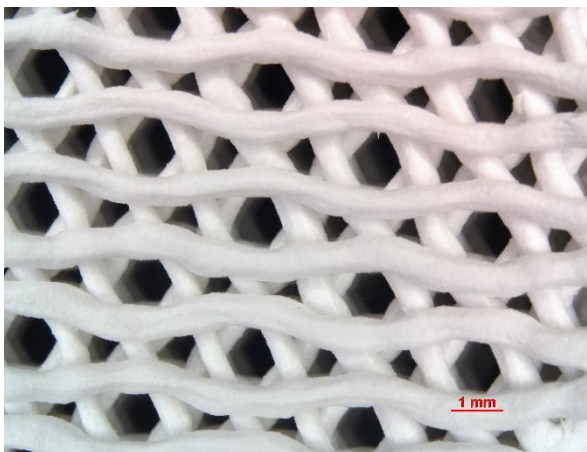
Dalla Figura 5.1 si può osservare come il reticolo sia rimasto sostanzialmente fedele a quanto progettato nel modello 3D. Si possono notare infatti le porosità principali e secondarie nella direzione ortogonale rispetto alle facce.

Dati gli scopi biomedicali di questi *scaffolds*, è necessario che questi risultino permeabili in tutte le direzioni dello spazio, quindi oltre che in “direzione z”, ovvero la direzione delle porosità principali e secondarie, è stato doveroso verificare che ci fosse permeabilità anche trasversalmente, nel “piano (x, y)”.

In Figura 5.2 possiamo notare che queste porosità sono presenti nello *scaffold* verde; non bisogna dare per scontata la loro presenza, però, anche dopo il trattamento termico, dato che, essendoci un ritiro volumetrico importante, queste possono arrivare ad essere totalmente chiuse.



*Figura 5.2. Micrografie al microscopio ottico, con vista in sezione a diversi ingrandimenti, dove è visibile la porosità trasversale degli scaffolds esagonali verdi che li rende strutture idonee al passaggio di fluidi corporei dato che i pori sono totalmente interconnessi tra loro.*

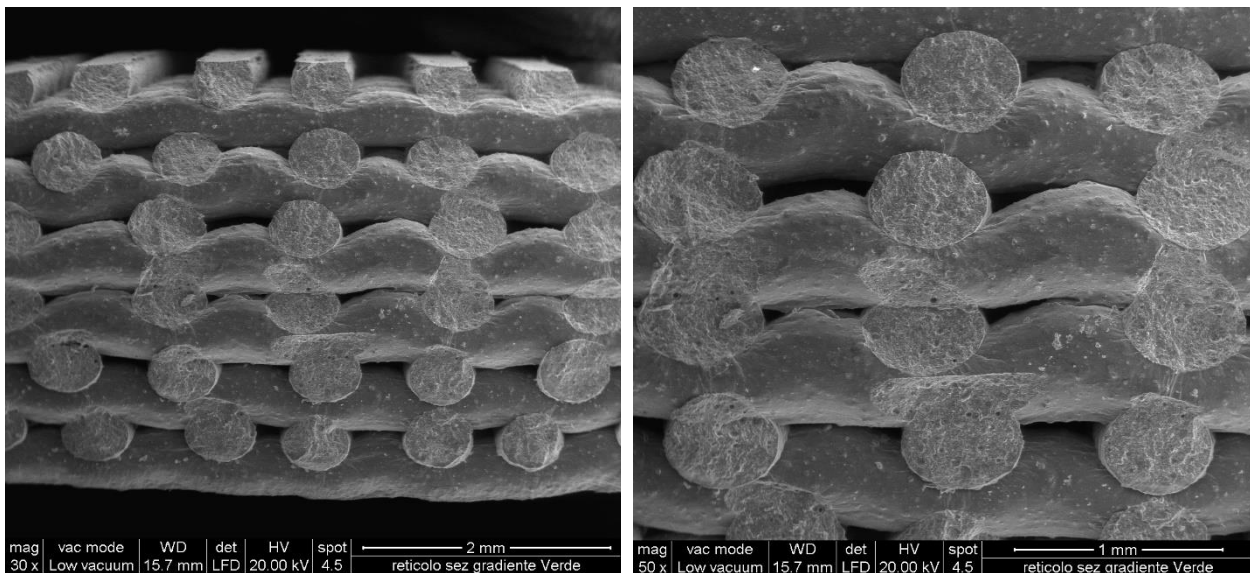


*Figura 5.3. Micrografie al microscopio ottico della tipologia di scaffold Esagonale 2, con vista dall'alto a diversi ingrandimenti, in due processi di stampa differenti: nella figura di sinistra si nota quanto più grosso sia il filamento estruso, dovuto ad una elevata viscosità raggiunta dalla pasta preceramica; a destra invece il filamento risulta molto più snello, cosa che ha permesso di raggiungere il livello di porosità progettato al CAD.*

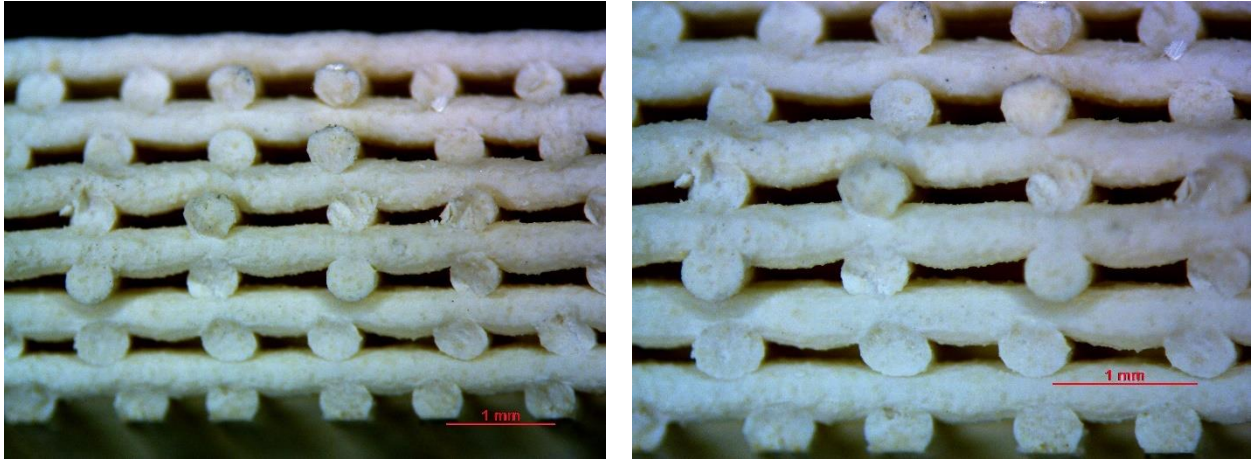


In Figura 5.3, riferendosi in particolar modo alla seconda tipologia di *scaffold* esagonale, è possibile vedere, sempre grazie al microscopio ottico, quanto la struttura verde stampata con il medesimo *G-code* possa essere diversa da una sessione di stampa ad un'altra, semplicemente per il cambiamento delle condizioni di viscosità dell'inchiostro e di conseguenza dei parametri di stampa. In queste micrografie eseguite al microscopio ottico è possibile vedere come la struttura non risulti danneggiata o con presenza di difetti prima del trattamento termico e come i filamenti mantengano la forma che gli è stata conferita dalla stampa.

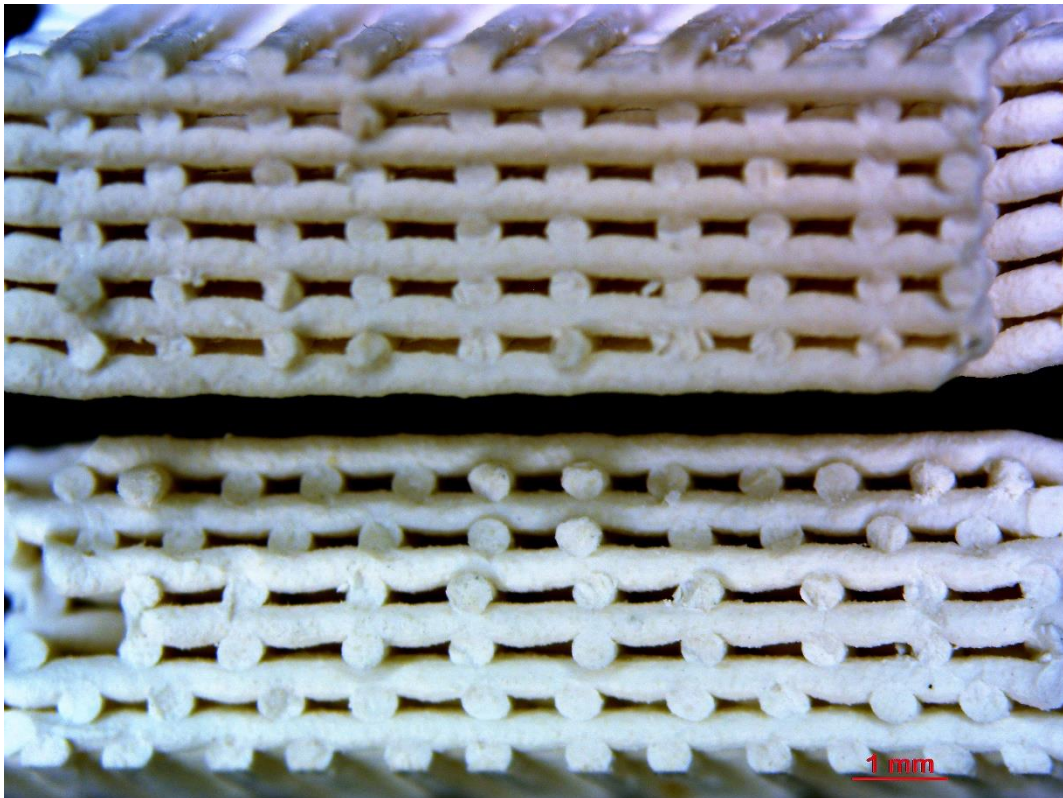
La tipologia di *scaffold* che risultava più critica in questo senso è quella a gradiente positivo di porosità, dalle estremità verso il centro: infatti la minore presenza di materiale nel mezzo poteva far sì che si verificasse un collasso strutturale, mettendo a rischio la presenza dell'interconnessione tra le porosità trasversali; questo fenomeno è dipeso fortemente dalle modalità di stampa e di viscosità che presentava l'inchiostro durante l'estrusione: in Figura 5.4 è visibile come, nella micrografia al microscopio elettronico a scansione, nel mezzo i filamenti risultino collassati, per l'eccessivo peso che sono chiamati a sostenere a causa della grande quantità di materiale che è stata estrusa, per l'elevata viscosità raggiunta dall'inchiostro nel processo di stampa; infatti da verde, la struttura non presenta alcuna caratteristica di resistenza meccanica, essendo ancora una pasta tenera. Sotto, in Figura 5.5, con micrografia al microscopio ottico, si può notare che la medesima struttura ha mantenuto la forma e i filamenti hanno aderito molto bene tra loro, lasciando connessione tra i pori trasversali della struttura.



*Figura 5.4. Micrografie al microscopio elettronico a scansione (SEM, Scanning Electron Microscope) della sezione, a diversi ingrandimenti, della struttura con gradiente di porosità ancora verde. I filamenti centrali, che sono quelli più spaziati tra loro, risultano schiacciati da quelli superiori, andando a compromettere l'interconnessione della porosità nella struttura.*



*Figura 5.5. Micrografie al microscopio ottico dello scaffold con gradiente di porosità, con vista in sezione a diversi ingrandimenti. Si nota molto bene la diversa spaziatura tra i filamenti, procedendo dall'esterno verso l'interno, dove i filamenti risultano spaziati tra loro di 850  $\mu\text{m}$ .*



*Figura 5.6. Micrografia al microscopio ottico del confronto tra il reticolo 0-90 a spaziatura costante e quello a gradiente di porosità, con vista in sezione.*

In Figura 5.7 è presente una micrografia al microscopio ottico del reticolo 0-45-90-135 ancora verde. In Figura 5.8 è possibile invece osservare il grado di connessione presente nel reticolo stesso: qui la porosità è fortemente interconnessa, ma non a scapito

dell'adesione di un filamento all'altro, che ne determina il contatto e dunque l'integrità strutturale.

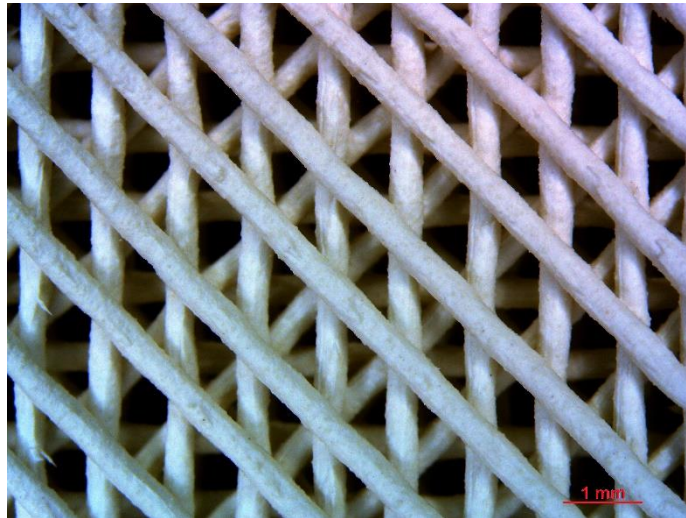


Figura 5.7. Micrografia al microscopio ottico della vista superiore del reticolo 0-45-90-135.

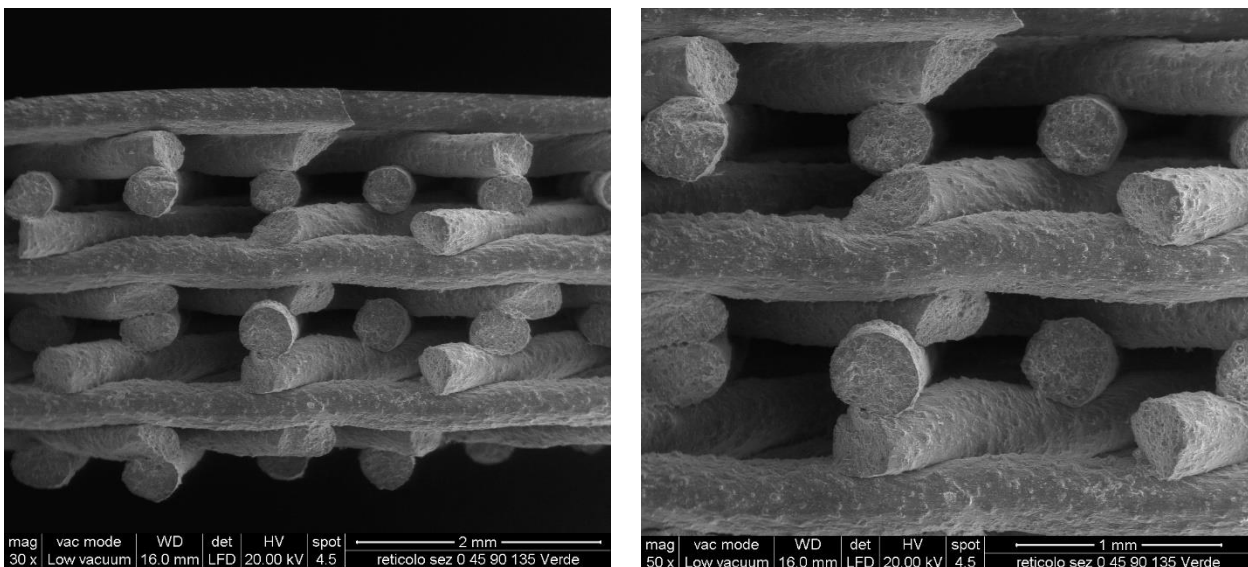
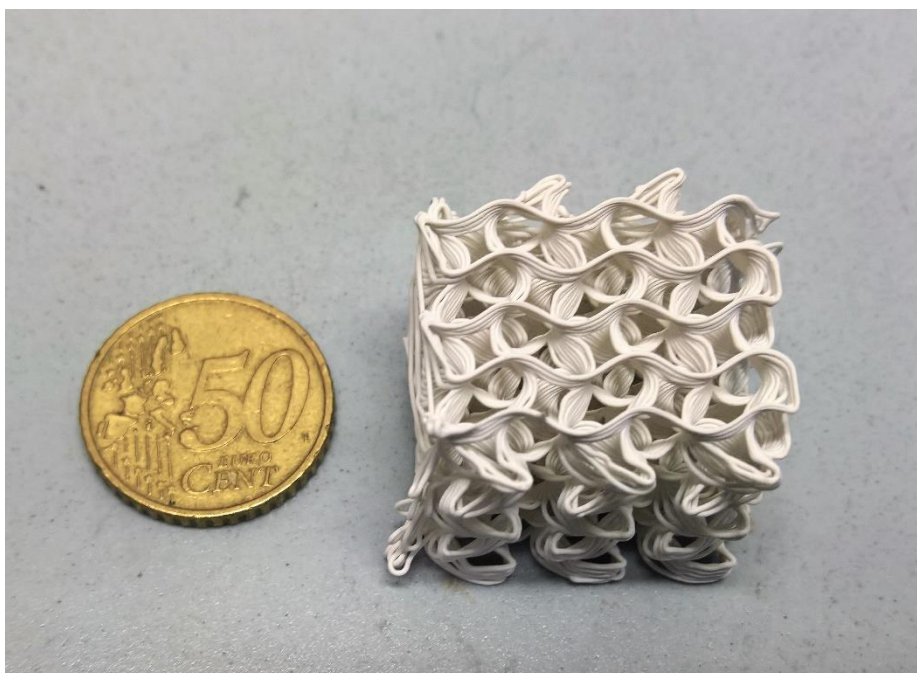
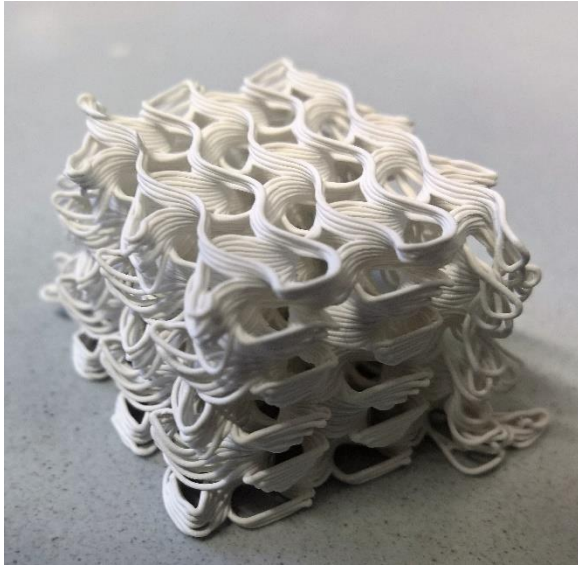


Figura 5.8. Micrografie al SEM della sezione del reticolo incrociato 0-45-90-135. La porosità è fortemente connessa.

### 5.1.1 Giroide da DIW

Come affermato in precedenza, in questo lavoro di Tesi si è voluta sperimentare la realizzazione di una forma tridimensionale di Giroide non realizzata attraverso tecniche di stereolitografia (SLA, DLP), ma attraverso l'estrusione di filamento di pasta ceramica, con tecnica *Direct Ink Writing*.

Il primo *scaffold* realizzato è stato quello in Figura 5.9, di dimensioni 30x30x30 mm<sup>3</sup>. È stato scelto questo tipo di dimensioni per osservare il comportamento dell'inchiostro nell'estrusione, avere la certezza che con questo tipo di geometria non si avesse un collasso della struttura da verde e ogni filamento estruso avesse effettivamente un contatto e una buona "saldatura" con il sottostante.

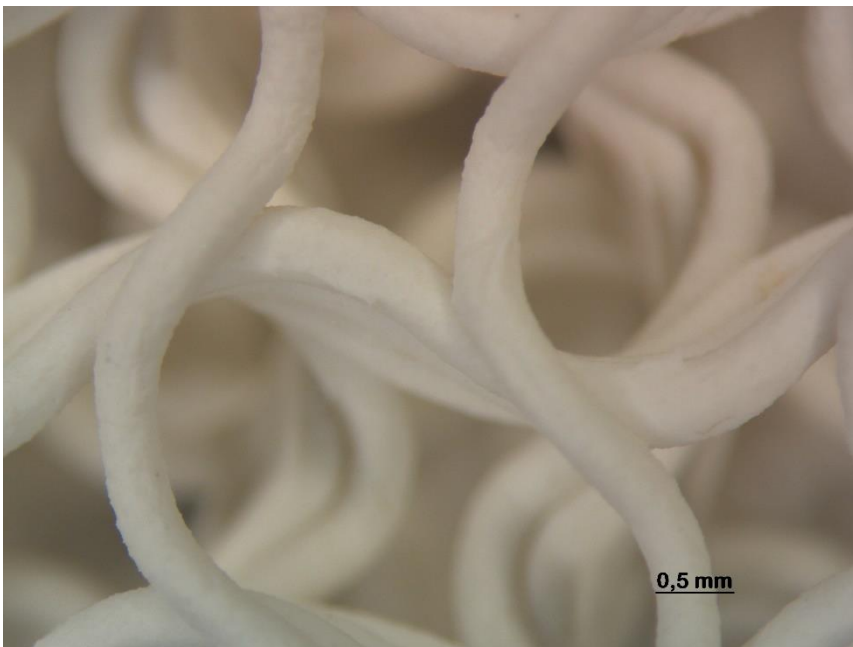
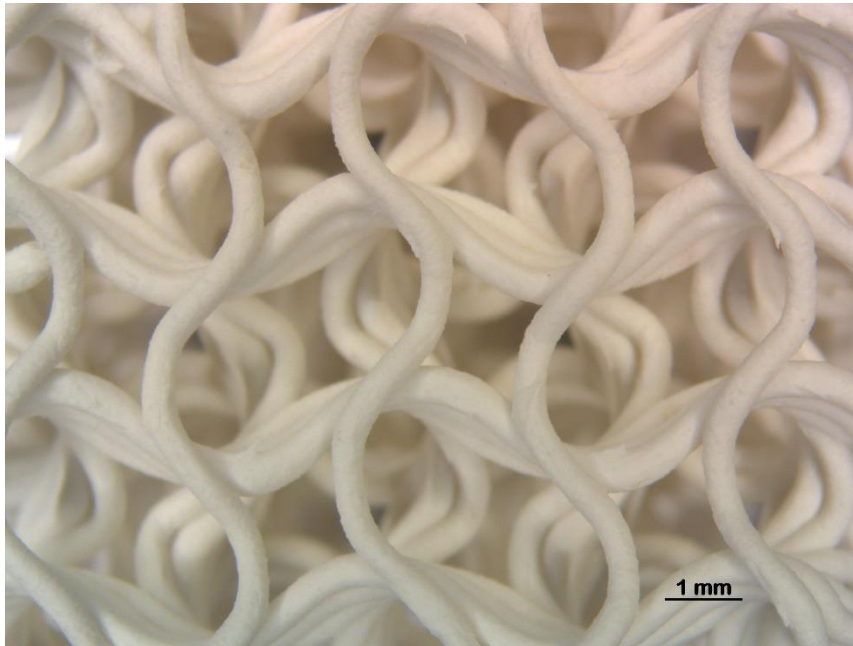


*Figura 5.9. Scaffold a forma di Giroide realizzato per DIW. Nella foto in basso si può avere un confronto dimensionale con una moneta da 50 centesimi.*

I filamenti risultano ben sovrapposti, con un leggero *offset* dato dal *G-code* e necessario per andare a descrivere la superficie giroidale.

Non è presente alcuna forma di collasso, segno che ancora una volta, questa composizione dell'inchiostro risulta ottimale per il raggiungimento delle proprietà reologiche richieste nella realizzazione di queste strutture.

In Figura 5.10 si osserva invece al microscopio ottico il dettaglio che riguarda l'interazione tra i filamenti, con vista dall'alto. L'immagine in questo caso si riferisce al campione ridotto alla dimensione di 15x15x15 mm<sup>3</sup>.



*Figura 5.10. Micrografie al microscopio ottico del Giroide 15x15x15, a diversi ingrandimenti.*

Anche in questo caso si può osservare che le modalità di stampa e le caratteristiche dell'inchiostro sono risultate ottimali, sebbene il diametro dei filamenti sia di circa 450  $\mu\text{m}$ , con il diametro dell'estrusore di 410  $\mu\text{m}$ . Questo è dovuto all'espansione radiale dell'estruso, dovuta all'improvviso calo di pressione e temperatura. Tuttavia, durante la ceramizzazione, il diametro arriva circa a 400  $\mu\text{m}$ , per il ritiro che accompagna la conversione da polimero preceramico a ceramico.

## 5.2 Scaffolds dopo trattamento termico

Di seguito vengono riportate le immagini relative agli *scaffolds* di *sphene* dopo trattamento termico eseguito a 1300 °C.

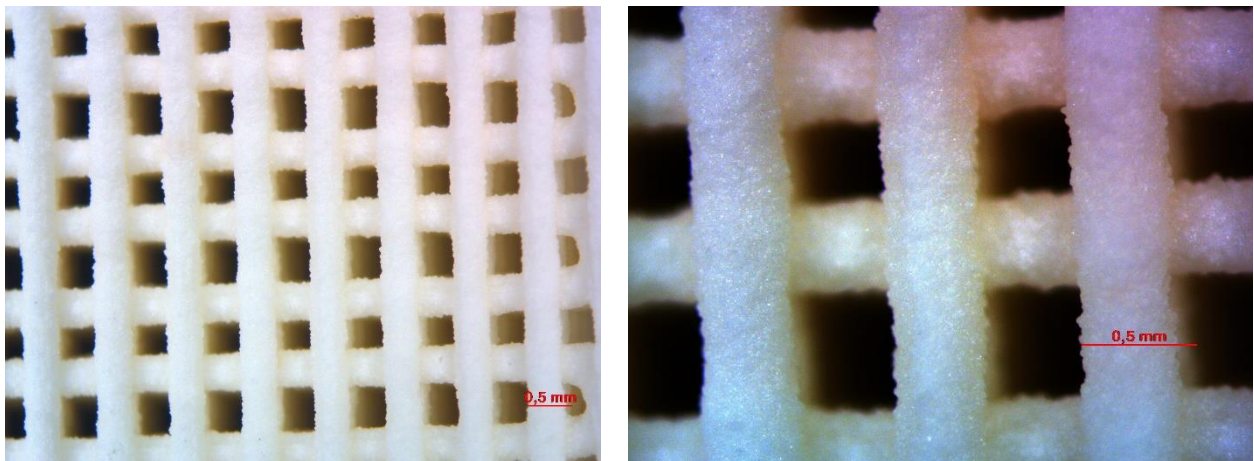


Figura 5.11. Micrografie al microscopio ottico dello scaffold 0-90, con vista dall'alto, dopo trattamento termico in atmosfera ossidante a 1300 °C.

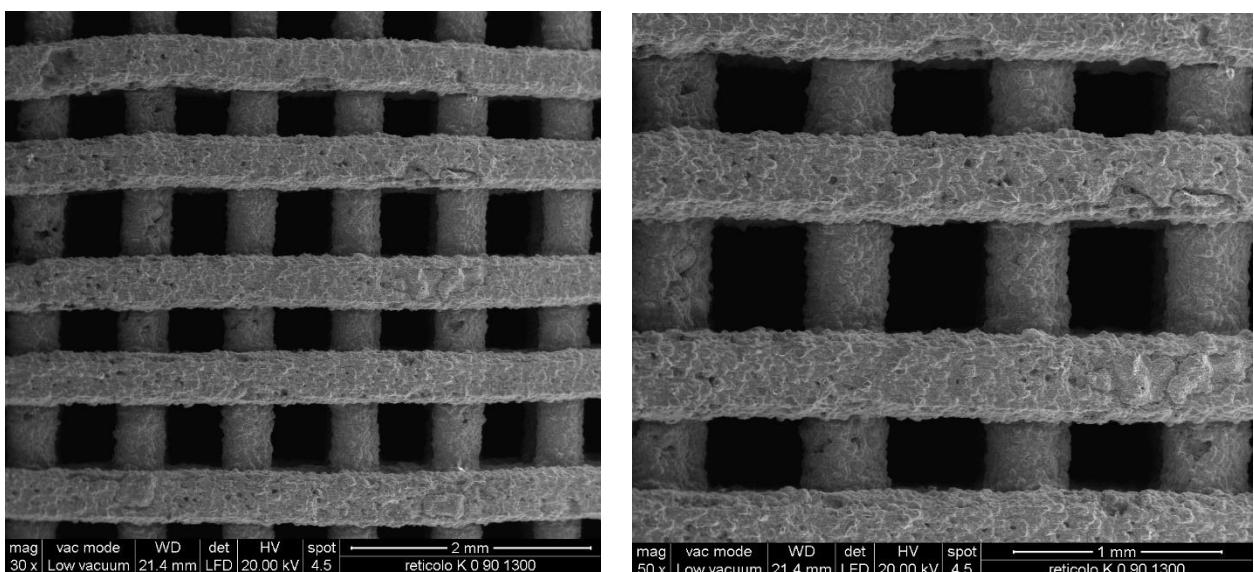


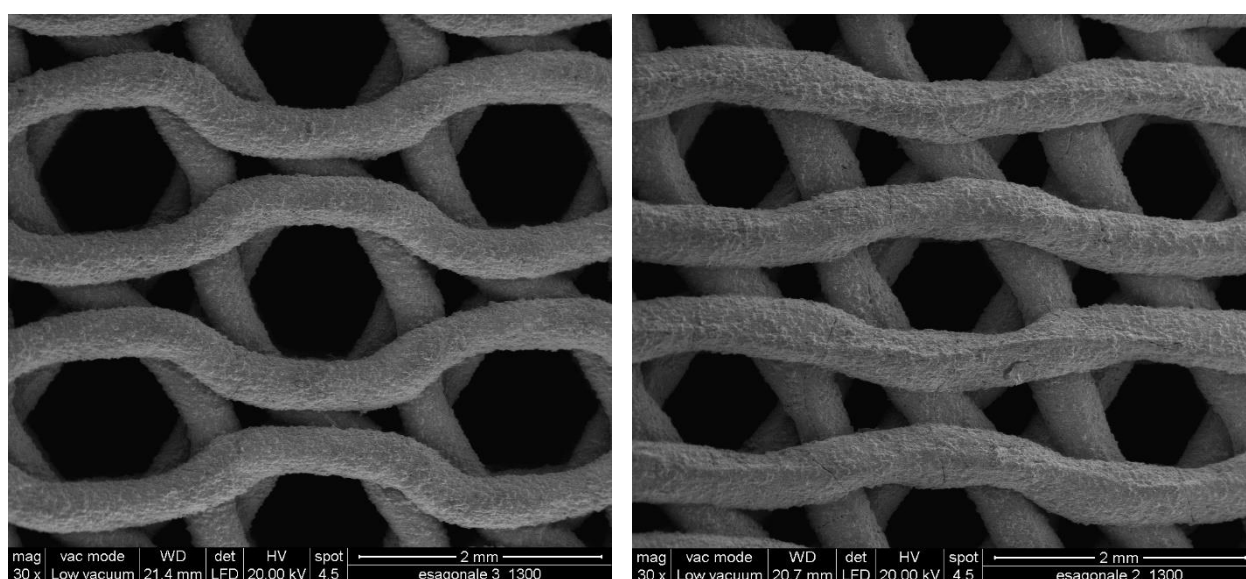
Figura 5.12. Micrografie al microscopio elettronico a scansione del reticolo 0-90, con vista dall'alto, ad ingrandimenti di 2 mm e 1 mm.

Già dalle immagini al microscopio ottico, si può affermare che la struttura semplice di *scaffold* 0-90 mantiene la forma e, in prima approssimazione, non presenta cricche superficiali, che si possono originare durante la fase di pirolisi del polimero MK.

L'assenza di difetti ci è testimoniata dalle micrografie eseguite al SEM, visibili in Figura 5.12, ad ingrandimenti di 2 mm e 1 mm.

Dopo il trattamento termico, è stato doveroso constatare che ci fosse effettivamente diversità tra le due tipologie di *scaffolds* esagonali realizzate, dato che con il ritiro volumetrico avvenuto non è da dare per scontato che le strutture mantengano una certa diversità, soprattutto nelle modalità di contatto e nella distribuzione dei macropori.

In Figura 5.13 vediamo l'esagonale 1 e l'esagonale 2.



*Figura 5.13. Micrografie al microscopio elettronico a scansione delle due tipologie di scaffold esagonale realizzate. Le differenze nella spaziatura dei filamenti sono ancora nitide e distinguibili.*

È ben visibile come i filamenti della tipologia di esagonale 1 abbiano maggiore superficie d'appoggio gli uni sugli altri, oltre a ridurre le luci tra un appoggio e il successivo, cosa che dovrebbe favorire la resistenza meccanica a causa di minori effetti flessionali sulla struttura. Dall'altro lato, una maggiore vicinanza tra i filamenti sicuramente genera minori porosità interconnesse e quindi più difficoltà per i fluidi corporei nel permeare la struttura. In questo caso risulta più favorevole la forma esagonale 2, dove ci sono meno porosità concentrate ma più distribuite omogeneamente nell'intera struttura, cosa che favorisce l'adesione e la proliferazione cellulare.

In Figura 5.14 si osserva la morfologia dello *sphene* con ingrandimenti successivi al microscopio elettronico, fino ad arrivare all'osservazione dei cristalli di questo ceramico.

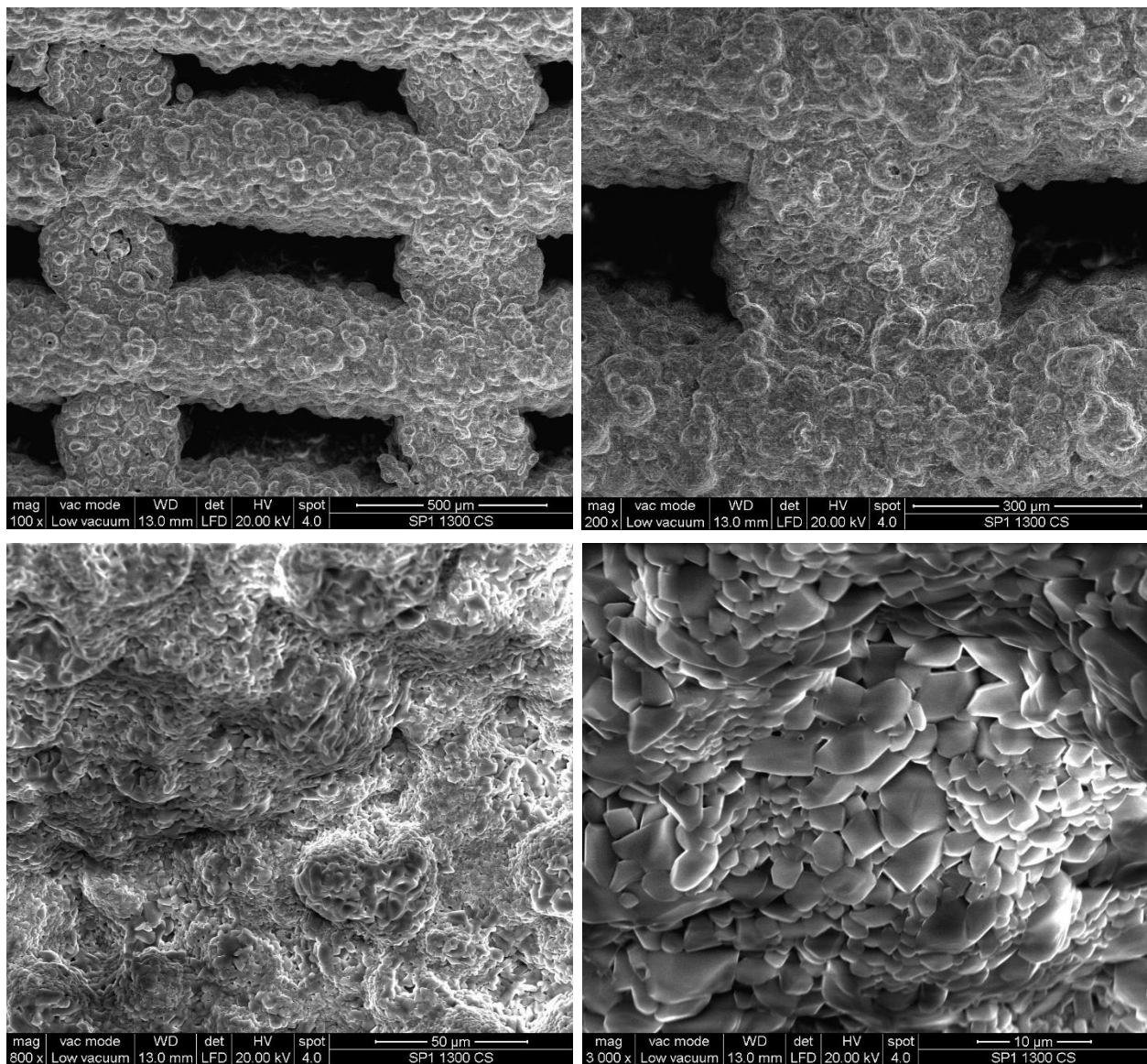


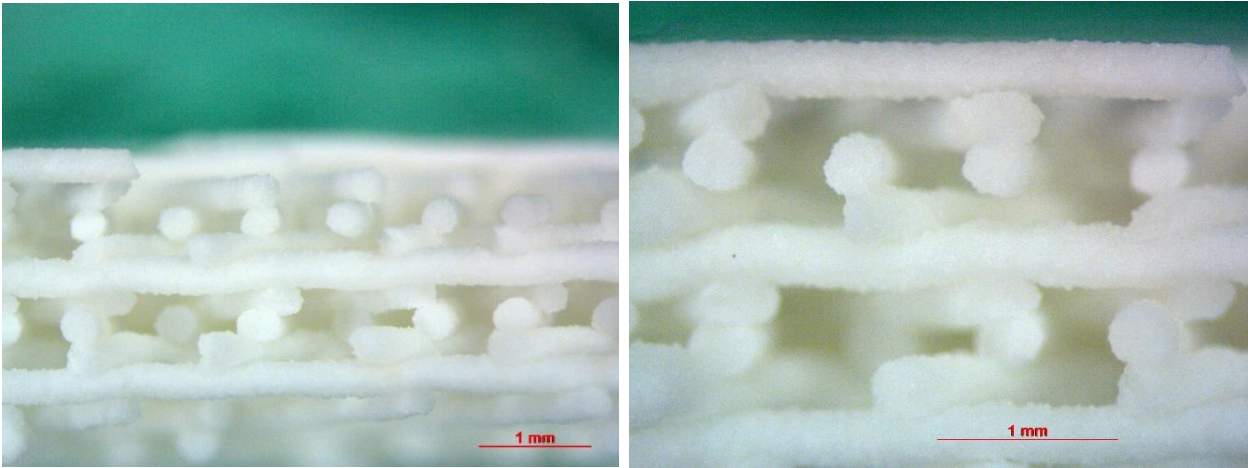
Figura 5.14. Micrografie SEM dello scaffold 0-90 dopo trattamento termico a 1300 °C ed in particolare della sezione dello strut, fino ad arrivare ai cristalli di ceramico; ingrandimenti a 500  $\mu\text{m}$ , 300  $\mu\text{m}$ , 50  $\mu\text{m}$  e 10  $\mu\text{m}$ .

Dall'ingrandimento a 300  $\mu\text{m}$  di Figura 5.14, si può notare come ci sia una grande coesione tra i filamenti del *layer n* e *n+1*; inoltre dalla sezione del filamento non emergono difetti, come cricche o bolle, che, se presenti, sono dovute al fatto che, essendo gli *scaffolds* trattati in aria e dunque in atmosfera ossidante, la combustione del polimero siliconico determina un rilascio di gas violento. Questo sta a significare anche che la porosità chiusa sarà molto probabilmente trascurabile, dato che la struttura è molto compatta e non sono presenti porosità di rilievo all'interno dei filamenti.

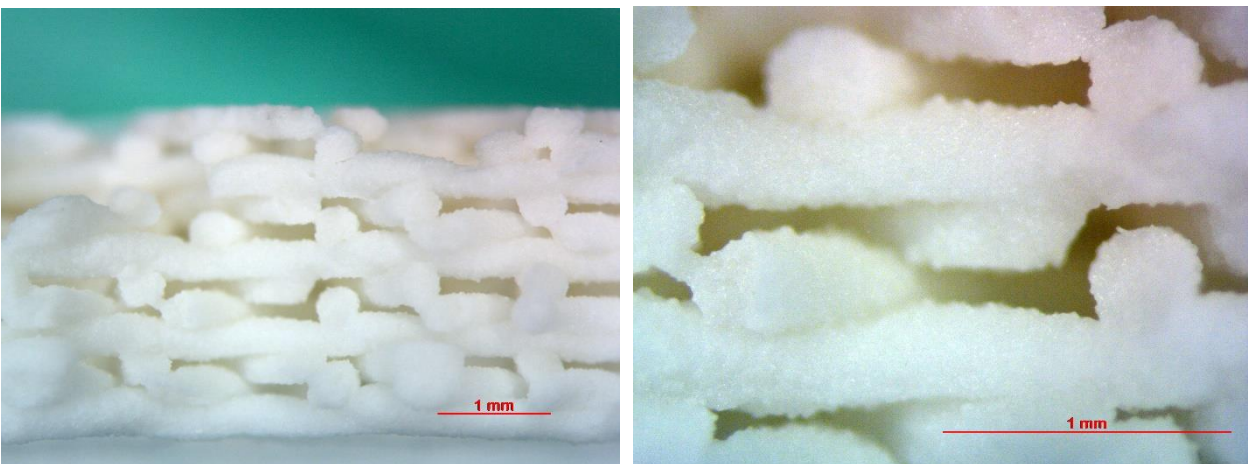
Nell'ultimo ingrandimento a 10  $\mu\text{m}$  si possono osservare i cristalli del materiale, lo *sphene*, molto compatti tra loro e omogenei in dimensione, inoltre si nota che la fase vetrosa amorfa residua è totalmente assente: il materiale ha totalmente cristallizzato.



Infine, l'ultimo controllo necessario è quello relativo al mantenimento delle porosità che gli *scaffolds* presentavano da verdi e che, a causa del ritiro, avrebbero potuto ridursi, fino quasi a diventare di dimensione inferiore a 100  $\mu\text{m}$ , limite minimo per le applicazioni biomedicali.



*Figura 5.15. Micrografia al microscopio ottico della sezione dello scaffold 0-45-90-135, dopo trattamento termico a 1300 °C.*



*Figura 5.16. Micrografia al microscopio ottico della sezione dello scaffold esagonale 1, dopo trattamento termico a 1300 °C.*

In entrambi i casi di Figura 5.15 e 5.16, le porosità trasversali sono state mantenute anche dopo trattamento termico, non ci sono stati fenomeni di ritiro troppo violenti che ne avrebbero compromesso la sopravvivenza.

Nel caso del Giroide, dove le luci tra due punti d'appoggio successivi del filamento sono decisamente maggiori che nelle altre strutture, consapevoli però che i filamenti stessi hanno meno peso da sostenere essendo molto più porosa la struttura, l'impalcato ha mantenuto perfettamente la forma; i filamenti non totalmente appoggiati sullo *strut* sottostante hanno perfettamente nell'area di contatto disponibile.

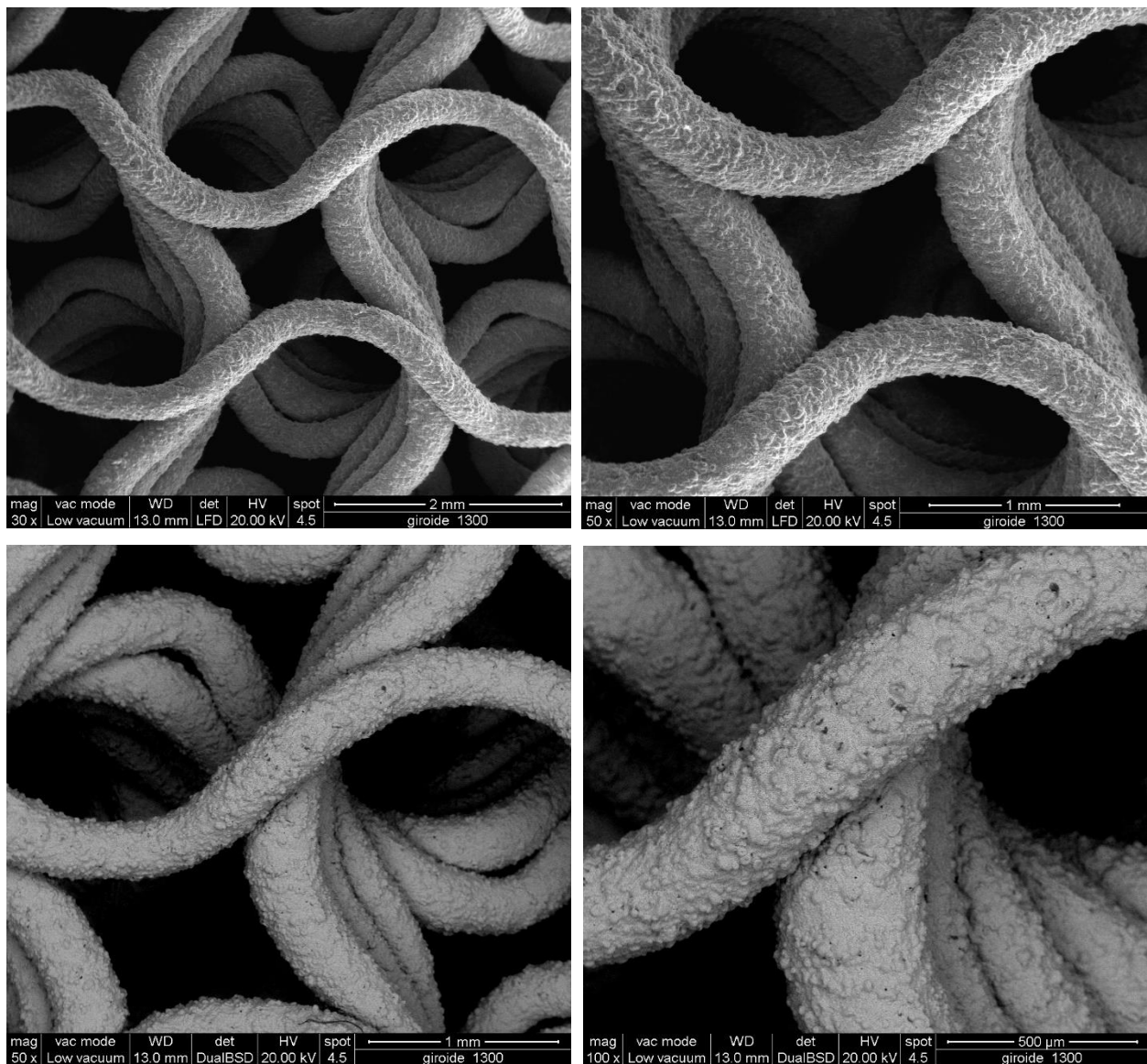


Figura 5.17. Micrografie al SEM della vista superiore del Giroide, dopo trattamento termico a 1300 °C.

## 5.2.1 Analisi XRD

Mediante analisi XRD (diffrattometria a raggi-X) si identificano le fasi cristalline presenti nel materiale che è stato stampato e poi sottoposto a trattamento termico, per assicurarsi che non ci siano state contaminazioni e che nella preparazione dell'inchiostro si siano utilizzate le quantità di *fillers* corrette.

Come ci si aspettava, l'unica fase presente è quella dello *sphene*  $\text{CaTiSiO}_5$ , come è possibile vedere dallo spettro delle polveri degli *scaffolds* che, dopo trattamento termico, sono stati polverizzati usando un mortaio in agata per poter eseguire quest'analisi.

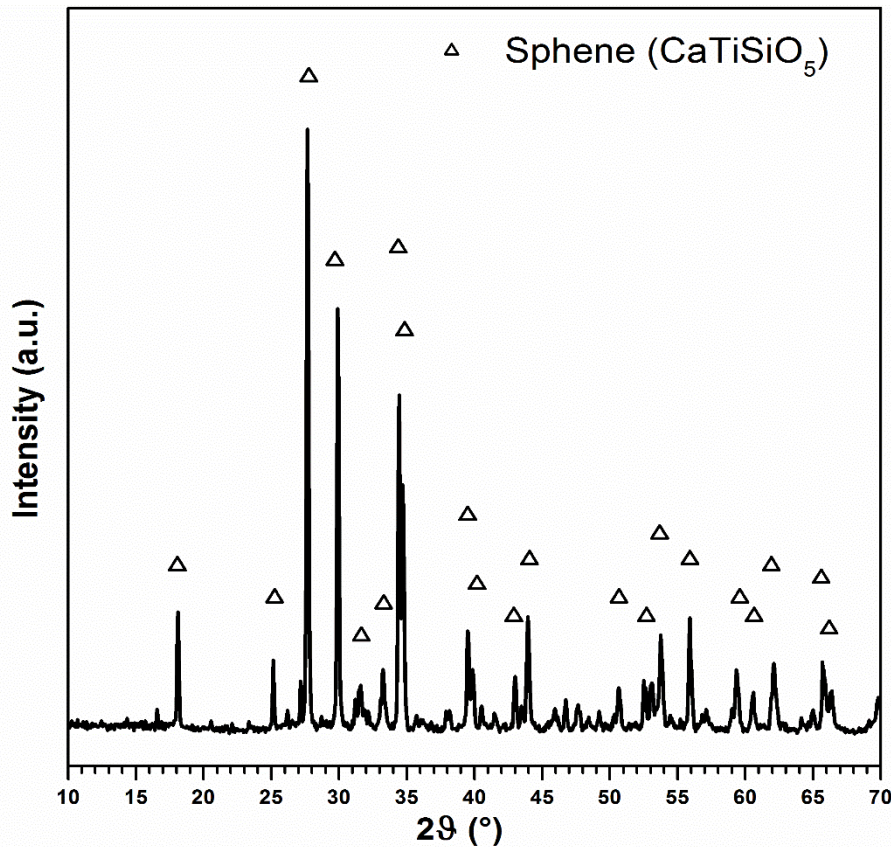


Figura 5.18. Spettro XRD delle polveri degli scaffolds, trattati in aria a 1300 °C.

## 5.2.2 Ritiri volumetrici

Confrontando uno *scaffold* prima del trattamento termico, fatto in atmosfera ossidante, e quindi ancora allo stato polimerico, con quello risultante ceramico, è possibile notare subito due differenze:

- è visibile una differenza di colore, infatti il polimero preceramico risulta perfettamente bianco, mentre lo *sphene* dopo trattamento termico risulta lievemente più giallastro;
- la differenza più importante risulta essere quella nelle dimensioni, infatti c'è un importante ritiro volumetrico da valutare.

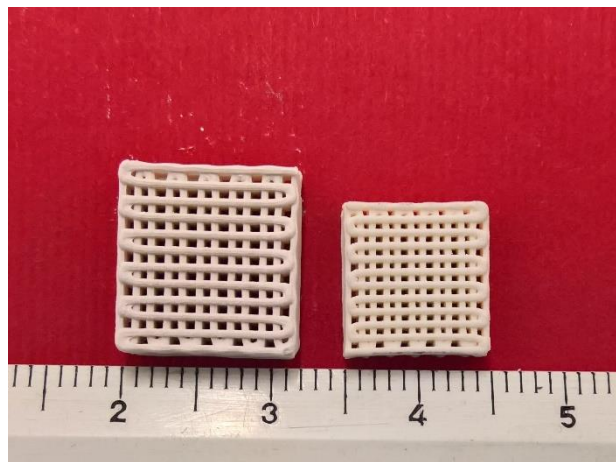
Vengono misurate le dimensioni, mediante un calibro, degli *scaffolds* cubici sia prima sia dopo trattamento termico, per poter stabilire il ritiro volumetrico mediante la Formula (12):

$$\Delta V [\%] = \frac{V_i - V_f}{V_i} \cdot 100 \quad (12)$$

<i>Scaffold</i>	$V_i$ [mm <sup>3</sup> ]	$V_f$ [mm <sup>3</sup> ]	$\Delta V$ [%]
Esagonale 1	784,58	426,24	45,67
Esagonale 2	721,61	430,54	40,34
0-90	540,39	322,63	40,30
0-45-90-135	528,76	311,13	41,16
Gradiente	563,77	290,22	48,52
Giroide	2979,07	1688,59	43,32

*Tabella 5.1. Valori medi dei volumi iniziali e finali, in mm<sup>3</sup>, e i relativi ritiri volumetrici percentuali di tutte le geometrie di scaffolds realizzate, per unica tipologia di trattamento termico.*

In Tabella 5.1 si leggono i valori dei ritiri volumetrici percentuali ottenuti dopo trattamento termico, per tutte le geometrie di *scaffolds* realizzati. I valori sono simili tra le varie tipologie, e non potrebbe essere altrimenti, dato che sono stati realizzati con lo stesso materiale. Tuttavia, c'è sicuramente un'influenza della struttura geometrica, che permette in modo migliore o peggiore ai gas risultanti dalla pirolisi del polimero preceramico di fuoriuscire dalla struttura.



*Figura 5.19. Confronto tra scaffold preceramico e dopo trattamento termico.*

### **5.3 Misure di densità e prova meccanica di compressione**

Al §4.3.7 vengono definite la densità geometrica  $\rho_g$ , apparente  $\rho_a$ , e vera  $\rho_t$ , valori ottenuti per mezzo di misure al picnometro. Inoltre viene spiegato il procedimento per calcolare la  $P_{aperta}$ , la  $P_{totale}$  e di conseguenza la  $P_{chiusa}$ . In Tabella 5.1 vengono

inseriti i valori misurati delle grandezze precedentemente nominate. Mediante le prove meccaniche di compressione, viene misurato il valore della forza massima in N, da cui si calcola lo sforzo massimo di resistenza a compressione in MPa, dividendo la forza per la sezione, in mm<sup>2</sup> del campione testato:

$$\sigma_c = \frac{F}{A} \quad (13)$$

<i>Scaffold</i>	$\rho_{geom}$ [g/cm <sup>3</sup> ]	$\rho_{app}$ [g/cm <sup>3</sup> ]	$\rho_{true}$ [g/cm <sup>3</sup> ]	P aperta [%]	P totale [%]	$\sigma_c$ [MPa]
Esagonale 1	1,1938 ±0,1472	3,2139 ±0,0012	3,3221 ±0,0008	62,85 ±4,58	64,06 ±4,43	15,26
Esagonale 2	1,2887 ±0,2364			59,90 ±7,35	61,20 ±7,11	18,68
0-90	1,4876 ±0,06			53,71 ±1,98	55,22 ±1,92	17,91
0-45-90- 135	1,4337 ±0,1776			55,38 ±5,52	56,84 ±5,34	11,81
Gradiente	1,4577 ±0,1815			54,64 ±5,64	56,11 ±5,46	9,78
Giroide	0,68 ±0,07			78,77 ±2,13	80,05 ±2,07	3,37

*Tabella 5.2. Misure della densità geometrica e apparente, valori della porosità aperta e sforzo massimo sopportato a compressione dallo scaffold.*

Come già affermato in precedenza, il processo di stampa per DIW presenta bassa ripetibilità, dovuta al fatto che mutano le condizioni in cui si presenta l'inchiostro nel momento della stampa. Perciò, dato il grande *range* di densità che si sono riscontrate in campioni della stessa geometria, stampati con il medesimo *G-code* dato in pasto alla macchina, si è scelto di suddividere gli *scaffolds* appartenenti ad una stessa geometria, in una o due famiglie, per vicinanza tra i livelli di porosità.

Nelle Tabelle seguenti vengono quindi visualizzati i dati di densità, porosità media e resistenza meccanica per ogni tipologia di *scaffold* in cui si è scelto di fare questo tipo di suddivisione: questo ci ha permesso di arrivare a delle conclusioni riguardanti la resistenza meccanica degli *scaffolds* stessi che possono essere confrontate tra loro. Viceversa non avrebbe molto senso generalizzare i dati di resistenza in un *range* di

porosità che oscilla tra il 15 e il 20 %, dato che questa influenza notevolmente il comportamento meccanico dello *scaffold*; inoltre non sarebbe possibile fare determinate affermazioni su *scaffolds* che a parità di porosità, presentano resistenze diverse, dato che la porosità è un dato medio che sottende anche valori di porosità molto lontani da esso.

Ecco dunque le famiglie che si sono delineate:

<i>Scaffold</i>	$\rho_{geom}$ [g/cm <sup>3</sup> ]	$\rho_{app}$ [g/cm <sup>3</sup> ]	$\rho_{true}$ [g/cm <sup>3</sup> ]	P aperta [%]	P tot [%]	$\sigma_c$ [MPa]
Famiglia 1 Esagonale 1	1,42 ±0,04	3,2139 ±0,0012	3,3221 ±0,0008	55,75 ±1,35	57,19 ±1,31	29,95 ±4,52
Famiglia 2 Esagonale 1	1,14 ±0,10			64,43 ±3,26	65,59 ±3,15	12,00 ±3,64
Famiglia 1 Esagonale 2	1,59 ±0,06			50,48 ±1,97	51,01 ±0,53	34,45 ±7,16
Famiglia 2 Esagonale 2	1,14 ±0,07			64,61 ±2,27	65,76 ±2,19	10,80 ±3,96
Famiglia 1 0-90	1,4876 ±0,0639			53,71 ±1,99	55,22 ±1,92	31,87 ±5,98
Famiglia 1 0-45-90-135	1,58 ±0,13			50,71 ±4,15	52,31 ±4,02	15,53 ±6,60
Famiglia 2 0-45-90-135	1,31 ±0,07			59,18 ±2,28	60,66 ±2,14	7,57 ±1,91
Famiglia 1 Gradiente	1,68 ±0,10			47,77 ±2,97	49,47 ±2,87	17,42 ±4,60
Famiglia 2 Gradiente	1,35 ±0,07			58,08 ±2,25	59,44 ±2,17	5,96 ±2,03
Famiglia 1 Giroide	0,68 ±0,07			78,77 ±2,28	80,05 ±2,07	3,37 ±1,08

*Tabella 5.3. Misure di densità, porosità e resistenza meccanica delle famiglie identificate tra i vari campioni.*

Dalle misure di porosità effettuate con il picnometro sugli *scaffolds* e sulle polveri degli *scaffolds* stessi, si può notare che la densità apparente e la densità vera differiscono per una percentuale molto bassa: ciò sta ad indicare che la porosità chiusa ha un valore molto basso ma soprattutto che i filamenti al loro interno risultano molto densi e compatti, con assenza di vuoti. La porosità aperta, come affermato in precedenza, acquisisce maggiore

importanza nel caso di *scaffolds* per applicazioni biomediche, poiché rende le strutture permeabili e favorisce la diffusione delle cellule all'interno, e quindi la loro adesione. La Tabella 5.3 suggerisce la possibilità di tracciare un grafico, per meglio identificare e confrontare le prestazioni delle diverse tipologie di *scaffolds*:

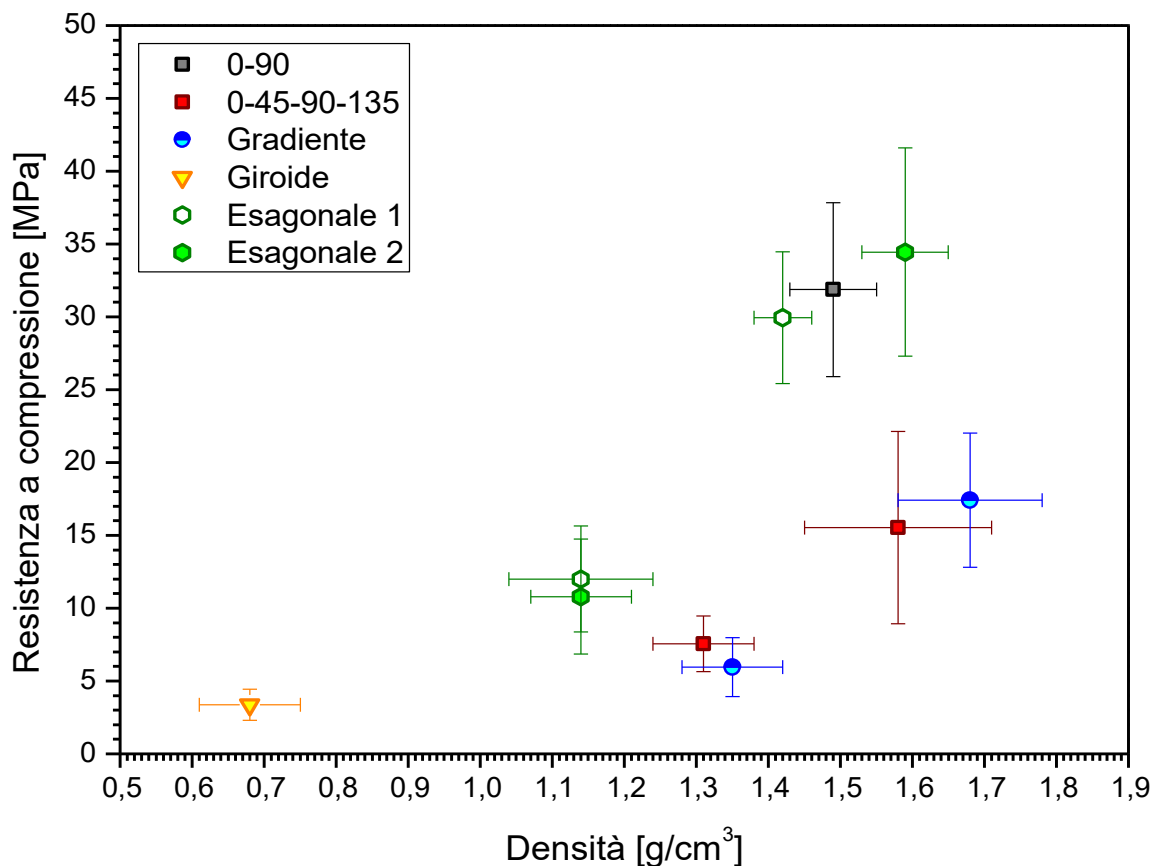


Figura 5.20. Andamento della resistenza a compressione all'aumentare della densità dei campioni stampati.

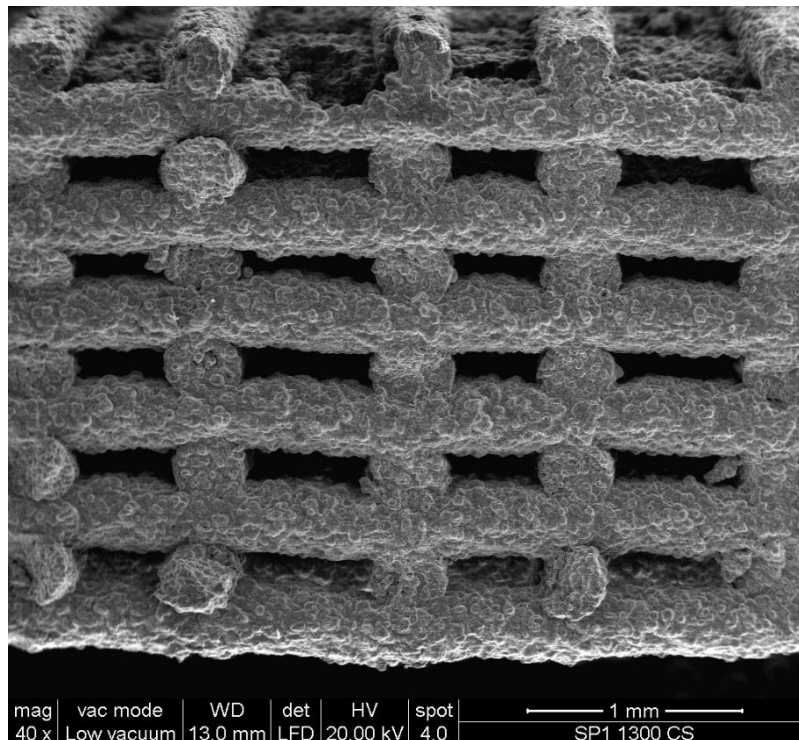
Dalla Figura 5.20 si possono distinguere meglio rispetto alla rappresentazione tabulare le famiglie di *scaffolds* che si sono andate a creare. Partendo dal raggruppamento che si può prendere a riferimento, compreso tra una densità geometrica media di 1,14 g/cm<sup>3</sup> e 1,35 g/cm<sup>3</sup>, si nota che la resistenza meccanica fornita dai campioni a reticolo incrociato 0-45-90-135 e dal reticolo con gradiente di porosità è molto bassa rispetto a quella fornita dai campioni esagonali, considerando anche il fatto che i reticoli risultano, in questo metro di paragone, più densi rispetto agli esagonali.

Per quanto riguarda il reticolo a gradiente ciò era prevedibile, dato che il fatto che gli *struts* risultino sfalsati provoca degli effetti flessionali non indifferenti, che fa sì che la struttura non impieghi molto a crollare.

Diversamente, nella struttura 0-45-90-135, con spaziatura diversa tra i filamenti dei diversi *layer* pensata per avere una porosità maggiormente interconnessa e avere minori accumuli di materiale, che sarebbero andati a costituire delle “colonne” di materiale ricche di difetti che avrebbero minato alla resistenza strutturale dello *scaffold*, abbiamo un piccolo miglioramento delle proprietà meccaniche rispetto al modello del gradiente ma non confrontabile con i valori medi forniti dagli esagonali.

Gli *scaffolds* esagonali, presentano anch’essi punti di accumulo tensionale dovuti alla presenza di filamenti che nella “luce” tra un appoggio sottostante e il successivo risultano avere un appoggio da parte del filamento sovrastante, andando a costituire una struttura di “trave su due appoggi con forza concentrata”; tuttavia, riescono a scaricare meglio questo punto di tensione, per il fatto che sono molteplici i punti di contatto e di adesione tra i filamenti appartenenti a livelli diversi.

Nella zona in alto a destra, per valori di densità più elevati, si vede che i campioni esagonali sono assolutamente paragonabili al campione 0-90.



*Figura 5.21. Micrografia al SEM della sezione del reticolo incrociato 0-90, dove è possibile vedere, data la perfetta sovrapposizione dei filamenti, le “colonne” di materiale che provocano punti di concentrazione dei difetti, essendoci un volume di materiale grande in gioco.*

Questo è un risultato inaspettato, poiché nel campione a reticolo incrociato ortogonale, non risultano essere presenti effetti “flessionali” sulla struttura, dato che per ogni punto di appoggio del filamento  $n+1$  su un filamento  $n$ , c’è il corrispondente punto del filamento  $n-1$  che lo va a sostenere esattamente nello stesso punto sul piano orizzontale (x, y).



Questo effetto si può pensare sia dovuto ad un “effetto Weibull” sulla struttura 0-90, dovuto al fatto che c’è continuità di materiale lungo la direzione z dell’impalcato, com’è visibile in Figura 5.21: la concentrazione di materiale dovuta all’adesione dei filamenti che costituiscono una continuità volumetrica di vetroceramico, fa sì che ci sia un accumulo di difetti, dovuti proprio alla maggiore presenza di materiale connesso. Questa può essere un’ipotesi plausibile per spiegare la vicinanza tra i valori medi di resistenza degli *scaffolds* esagonali e il reticolo, essendo diversa e più gravosa la condizione di carico dei primi.

Il dato medio che vediamo nella parte inferiore sinistra del grafico rappresenta il Giroide. In primo luogo la struttura è molto più porosa rispetto alle altre, dato che il valore medio è decisamente superiore agli altri *scaffolds* realizzati; osservando distrattamente il grafico si potrebbe affermare, erroneamente, che il Giroide è da scartare, dato che il valore medio di resistenza a compressione  $\sigma_c$  è di soli 3,37 MPa. La prima considerazione è rivolta alla richiesta minima di resistenza a compressione di *scaffolds* per applicazioni biomediche, che è di 2 MPa, ampiamente superata. In secondo luogo si può sicuramente affermare che nella struttura del Giroide ci sono molti effetti di *bending*, per conformazione stessa della struttura, nel momento in cui viene applicato un carico di compressione, ma si tratta di flessione lamellare e non trabecolare, come possono essere invece le strutture di *Kelvin* o le strutture *Diamond*. Quindi con certezza possiamo parlare di struttura “*bending dominated*”, e quindi andare ad applicare la Formula (2) al §3.3.1, che correla la resistenza a compressione ad una ipotetica resistenza a flessione della fase solida equivalente. La Formula (2) di *Gibson e Ashby* è valida per strutture con porosità elevata (70% o superiore), e quindi in questo caso applicativo possiamo ritenere di avere una buona indicazione per la famiglia più porosa dei due tipi di esagonali e per il Giroide. Per completezza la formula è stata estesa a tutte le famiglie di *scaffolds* realizzate, ma senza alcuna valenza applicativa, ma solo per avere un confronto ulteriore tra le diverse strutture.

<i>Scaffold</i>	$\sigma_{\text{bend}}$ [MPa]
Esagonale 1 Famiglia 1	534,30 ± 56,23
Esagonale 1 Famiglia 2	298,13 ± 81,24
Esagonale 2 Famiglia 1	516,06 ± 80,65
Esagonale 2 Famiglia 2	263,28 ± 76,54
0-90 Famiglia 1	530,03 ± 87,26
0-45-90-135 Famiglia 1	228,28 ± 65,43
0-45-90-135 Famiglia 2	151,77 ± 30,61
Gradiente Famiglia 1	239,78 ± 45,91
Gradiente Famiglia 2	113,80 ± 31,94
Giroide	181,08 ± 32,00

Tabella 5.4. Valori della resistenza teorica flessionale del materiale denso.

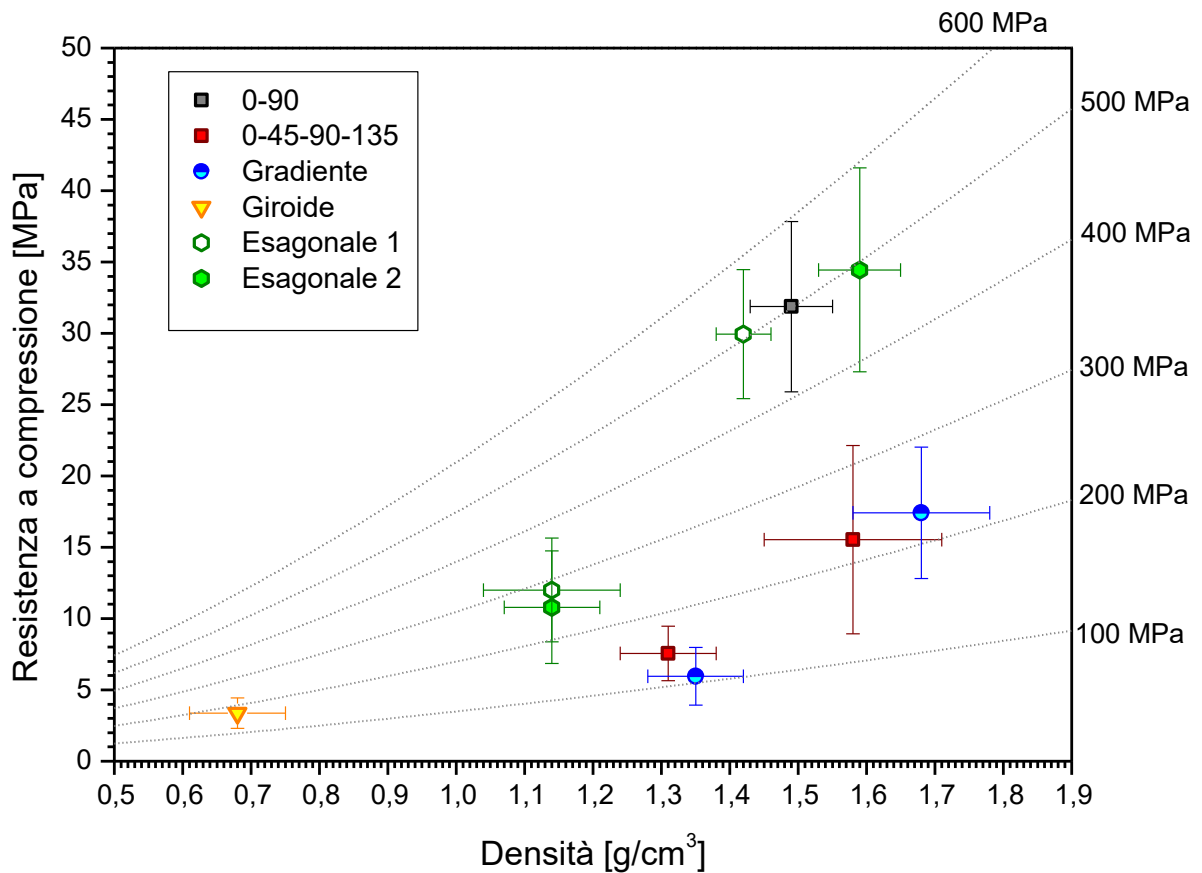
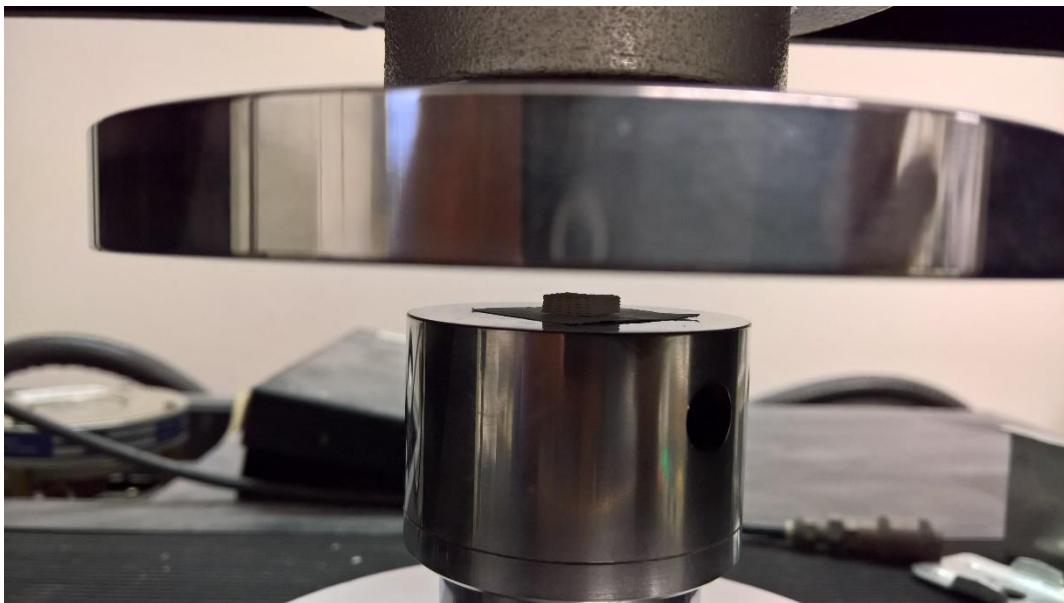
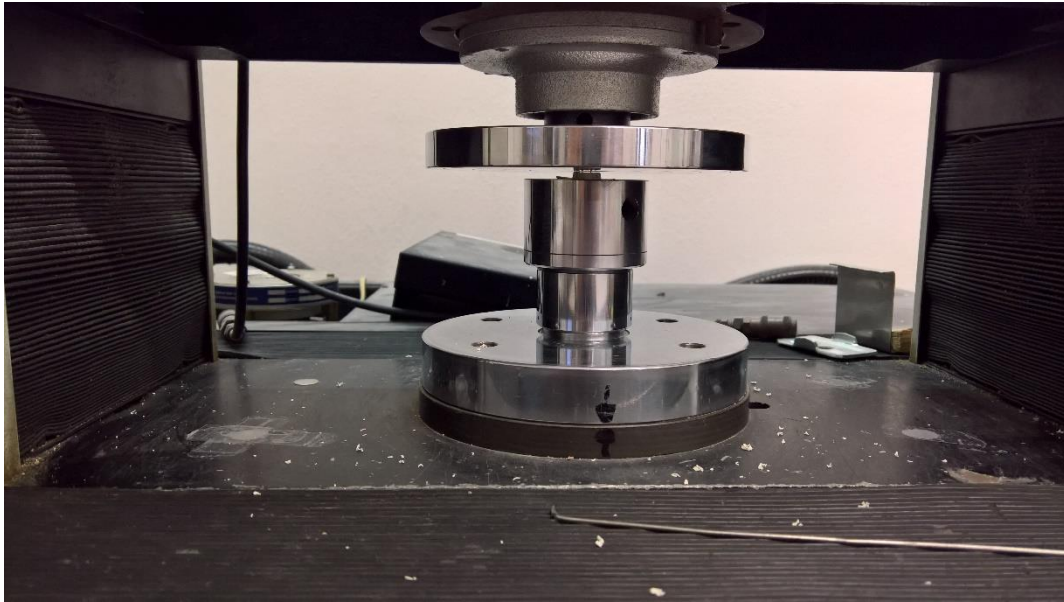


Figura 5.22. Visione delle linee di tendenza rappresentanti la resistenza teorica flessionale del materiale denso e il rispettivo posizionamento degli scaffolds realizzati e testati

I valori che possono essere presi a riferimento dalla Figura 5.22 sono quelli relativi al Giroide e agli *scaffolds* esagonali porosi, dato il loro comportamento strutturale dove è presente il fenomeno flessionale e la porosità sufficientemente elevata. Il Giroide si attesta su un valore vicino alla curva dei 200 MPa, valore molto elevato di resistenza flessionale per un materiale ceramico denso; gli esagonali sono addirittura vicini alla curva dei 300 MPa di resistenza. Ciò sta a testimoniare che in queste strutture la porosità risulta non una fase indebolente ma una fase rinforzante.

In Figura 5.23 è possibile vedere l'impianto della macchina per la prova di compressione, dove lo *scaffold* viene collocato tra i due piatti in attesa di far partire la macchina che inizia a muovere in senso discendente il piatto superiore, dove è collocata la cella di carico che registra il valore della forza opposta dal campione. In Figura 5.24 è raffigurata una curva sforzo-deformazione di un campione di *scaffold* a geometria esagonale: c'è una fase iniziale di assestamento della curva dovuta al primo contatto con il piatto superiore della macchina, dove man mano tutta la superficie dello *scaffold* prende contatto fino ad essere totalmente aderente al disco metallico, per la rottura delle prime "creste" di materiale che

non rendevano la superficie planare; dopodichè si può identificare chiaramente il tratto lineare elastico della curva, fino ad arrivare al cedimento strutturale, dove, raggiunta la  $\sigma$  di rottura, lo sforzo cala a picco a deformazione nulla per un breve tratto. Qui la struttura si può definire rotta. In seguito c'è lo sbriciolamento del materiale, fino ad ottenere sostanzialmente polvere.



*Figura 5.23. Scaffold inserito tra i due piatti della macchina per la prova di compressione, pronto per essere compresso.*

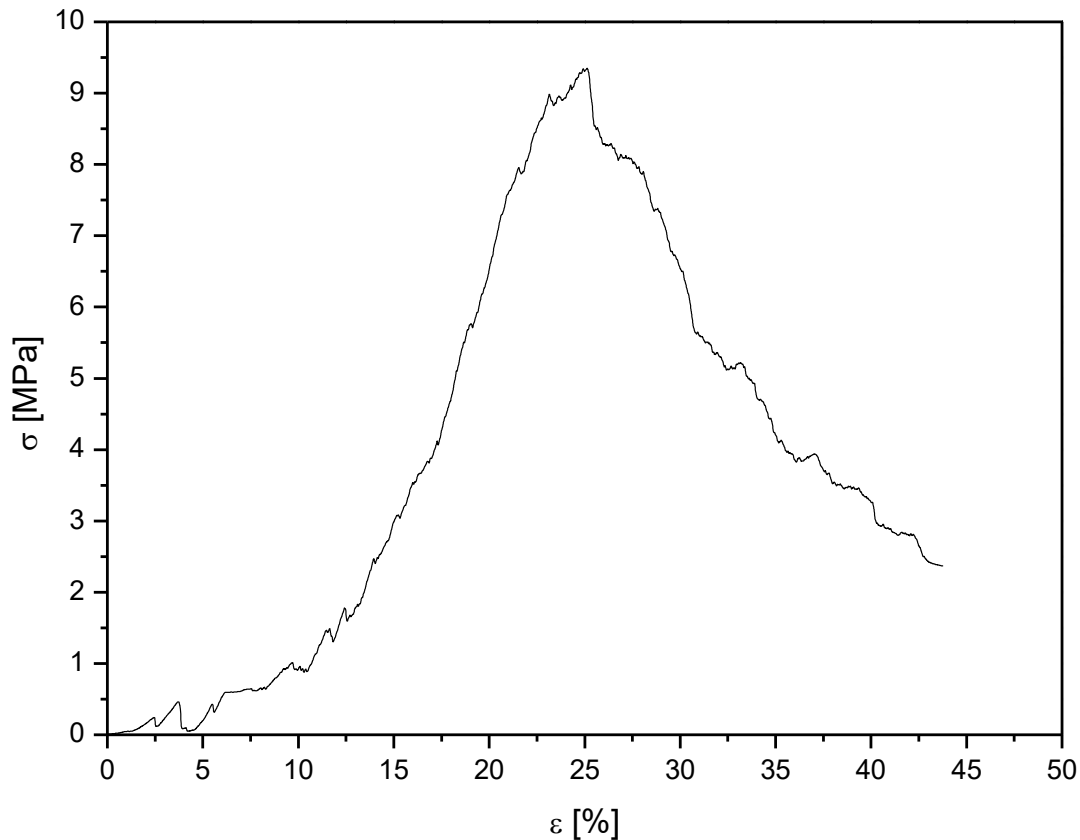


Figura 5.24. Grafico sforzo-deformazione di uno scaffold esagonale in sphere.

## 5.4 Prova meccanica di flessione a 4 punti

Come integrazione alle prove di compressione fatte sulle diverse tipologie di *scaffolds* realizzati, una seconda tappa del lavoro è stata quella di realizzare delle barrette di *sphere* tramite tecnica DIW, da sottoporre ad una prova di flessione a 4 punti.

Si è voluto andare a confrontare due tipologie di *scaffolds* differenti per architettura dei filamenti, seppur a parità di porosità totale. Sono stati ripresi due dei modelli precedentemente realizzati per gli *scaffolds* sottoposti a compressione: lo 0-90 e il gradiente di porosità, crescente dalle estremità verso l'interno.

Se nella prova di compressione è risultato evidente che il gradiente di porosità non dà nessun beneficio, anzi, dato che si instaurano effetti flessionali importanti sui filamenti, per la prova di flessione a 4 punti, dove le fibre maggiormente sollecitate sono quelle esterne inferiori, il gradiente di porosità dovrebbe fornire un effetto benefico sulla struttura, andando ad incrementare la resistenza flessionale, data la maggiore inerzia rispetto all'asse neutro di flessione, fornita da una maggiore presenza di materiale all'estremità sollecitata.

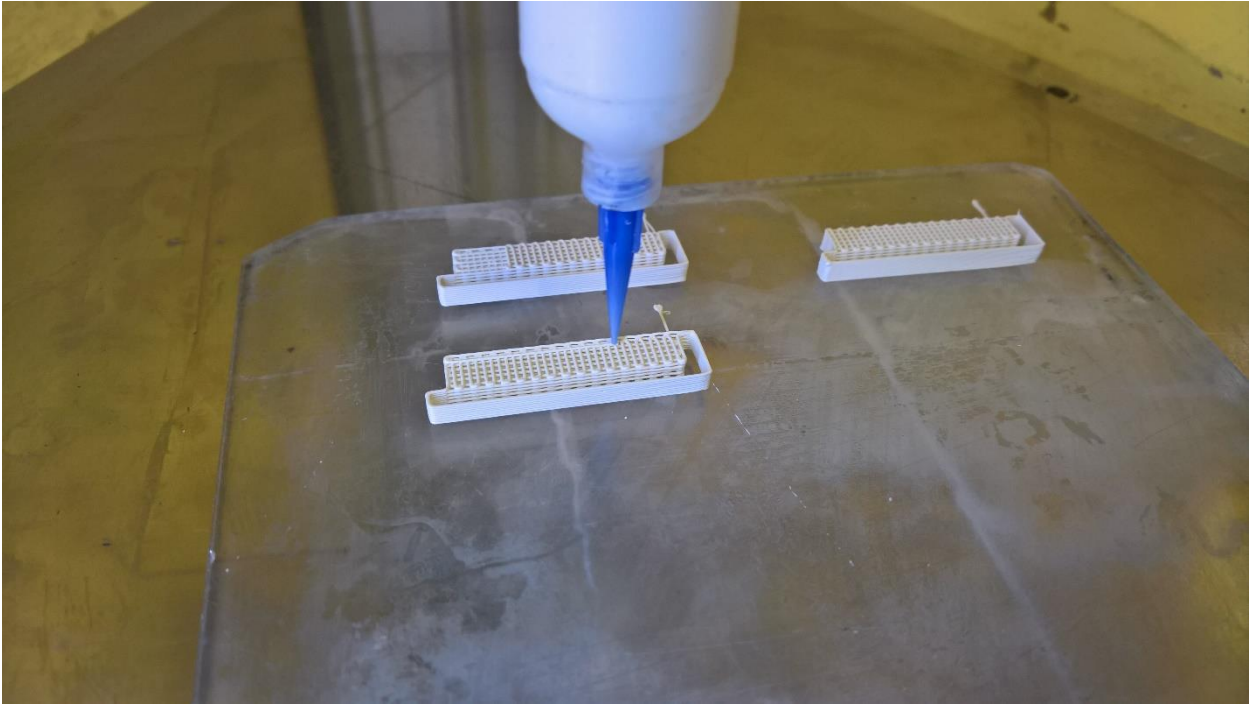


Figura 5.25. Fase di stampa delle barrette da sottoporre a flessione tramite tecnica ad estrusione DIW.

#### 5.4.1 Schema statico della prova

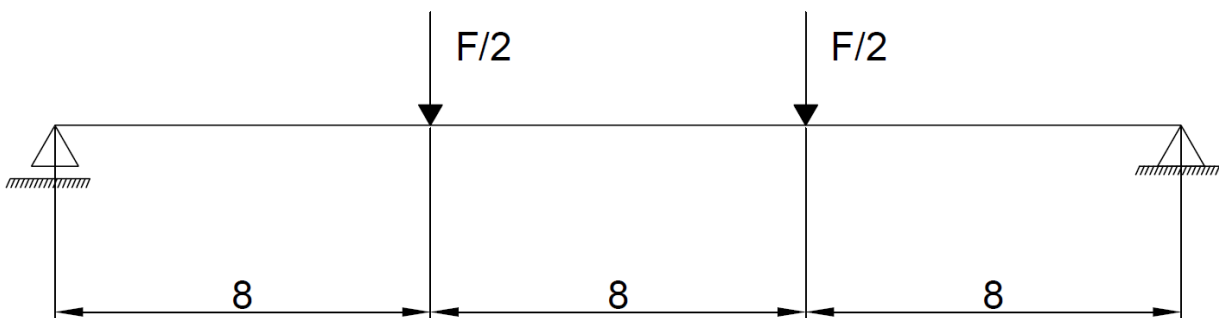


Figura 5.26. Schema statico della prova di flessione a 4 punti che si va' ad eseguire sui campioni di sphene.

La luce tra i due appoggi è pari a 24 mm, e i due perni che vanno ad applicare la forza sono distanziati di  $L/3$  l'uno dall'altro e di  $L/3$  dall'appoggio più vicino.

La formula che permette di calcolare lo sforzo massimo sulla barretta, considerandola come fosse completamente densa, è la seguente:

$$\sigma_f = \frac{F*L}{b*h^2} \quad (13)$$

- $b$ : base della sezione
- $h$ : altezza della sezione

## 5.4.2 Risultati e discussione

Scaffold	$\rho$ ,geom [g/cm <sup>3</sup> ]	$\rho$ ,app [g/cm <sup>3</sup> ]	$\rho$ ,true [g/cm <sup>3</sup> ]	P aperta [%]	P tot [%]	$\sigma_f$ [MPa]
0-90	1,29 ± 0,06	3,2139 ± 0,0012	3,3221 ± 0,0008	59,95 ± 1,87	61,25 ± 1,81	9,04 ± 1,37
Gradiente	1,29 ± 0,07			60,00 ± 2,32	61,30 ± 2,24	10,68 ± 2,68

Tabella 5.5. Valori di densità, di porosità e di resistenza flessionale che sono stati trovati sulle due tipologie di scaffolds.

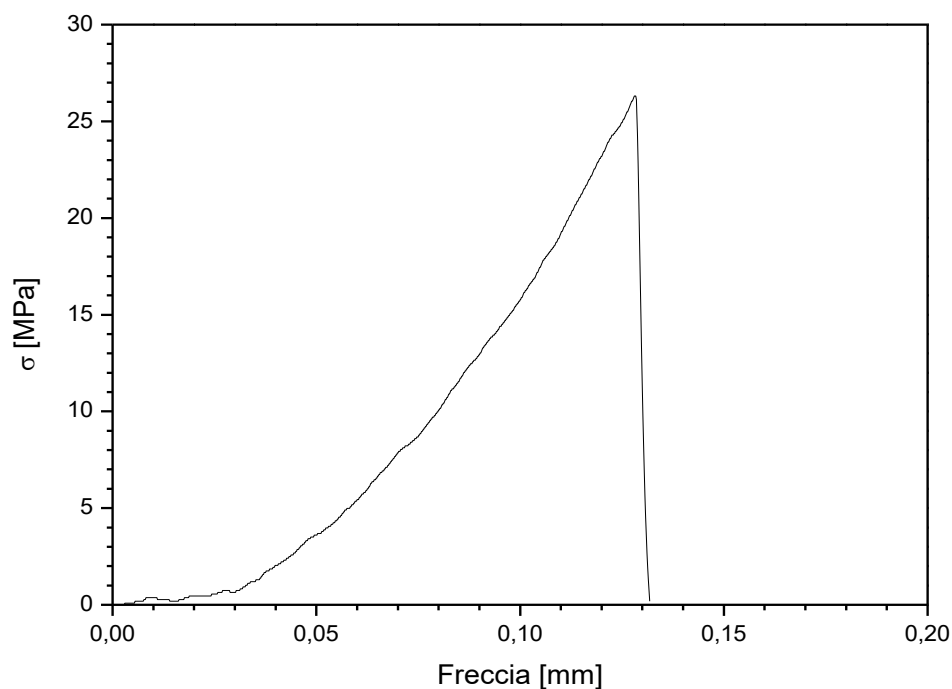


Figura 5.27. Grafico sforzo-freccia in mezzeria di uno scaffold a porosità variabile nella prova di flessione a 4 punti.

Dai risultati della prova, si nota come non si possa affermare con certezza che lo *scaffold* graduato resista ad uno sforzo maggiore rispetto allo *scaffold* a porosità costante. I valori medi però ci dicono che risulta essere di un 17 % maggiore. Molto probabilmente, avendo un campione di *scaffolds* maggiore su cui effettuare le prove, si riuscirebbero ad avere dei dati con un grado di affidabilità maggiore e dunque con una deviazione dalla media più ridotta. Un'altra cosa molto interessante da osservare in questo confronto è che la porosità raggiunta dai due *scaffolds* di diversa struttura è esattamente la stessa, ovvero quella progettata al CAD: questo confronto vive quindi di una base di partenza molto solida che è la medesima densità relativa, perciò i risultati acquisiscono una valenza non trascurabile relativamente a questo confronto. Molto probabilmente, la linearità dei percorsi, unitamente al fatto che l'estrusore non è chiamato a cambiare direzione molteplici volte in poche frazioni di secondo, fa sì che l'inchiostro possa fuoriuscire e depositarsi sul *layer* sottostante in maniera più "pulita", senza che la punta dell'estrusore rischi di venire a contatto con materiale già depositato, il che provoca l'accumulo di materiale a bordo *scaffold* che, inevitabilmente contribuisce a determinare gli aumenti di densità rispetto a quella decisa al PC. La ripetibilità della stampa di questo tipo di strutture è quindi maggiore rispetto agli *scaffolds* da compressione.

Dal grafico di Figura 5.27 si può osservare la curva sforzo-freccia derivante dalla prova di flessione a 4 punti effettuata su una struttura a porosità costante: di sensibilmente diverso rispetto alla curva per le prove di compressione è il crollo della sigma dovuto alla rottura di schianto del materiale, che una volta rotto non oppone più resistenza. La rottura è preceduta dal tratto lineare elastico che precede la rottura fragile. Nella prova di compressione invece lo sforzo diminuisce gradualmente perché c'è un fenomeno di rottura progressiva del reticolo; si possono anche osservare dei grafici dove, dopo il tratto lineare elastico, la curva di resistenza si assesta intorno ad un valore costante, indice del fatto che la struttura è chiaramente rotta ma si sta assistendo al fenomeno di compattazione delle polveri della struttura.

Anche in questo caso è possibile correlare la resistenza flessionale del solido poroso ad una resistenza teorica del materiale completamente denso e privo di porosità.

Dutta et al. [105] hanno proposto una correlazione empirica per descrivere la dipendenza della resistenza dalla porosità, descritta dalla seguente relazione:

$$\sigma_f = \sigma_0(1 - p)^m \quad (14)$$

- $\sigma_0$ : resistenza a flessione del materiale denso, senza porosità;
- $m$ : parametro che dipende dal materiale.

Con questi dati, invertendo la formula, andiamo a ricavare la resistenza teorica flessionale del materiale denso, con l'esponente  $m$  che vale 3 nel nostro caso:

<i>Scaffold</i>	P tot [%]	$\sigma_f$ [MPa]	$\sigma_0$ [MPa]
0-90	61,25 ± 1,81	9,04 ± 1,37	155,42 ± 23,51
Gradiente	61,30 ± 2,24	10,68 ± 2,68	184,32 ± 46,29

*Tabella 5.6. Valori di resistenza teorica a flessione del materiale denso, una volta nota la resistenza a flessione e la porosità degli scaffolds.*





# Capitolo 6

## Risultati e discussione: *scaffolds* da DLP (*Digital Light Processing*)

*In questo capitolo vengono presentati e discussi i risultati riguardanti la realizzazione di barrette con trama giroidale e i relativi test meccanici effettuati, ovvero il test di flessione a 4 punti, per vedere se sono significative le diversità nella distribuzione della porosità nel manufatto. Vengono misurate la variazione volumetrica, in seguito a trattamento termico, la densità e la porosità geometrica e apparente. Verranno presentate le risultanze sperimentali delle prove di flessione; verranno visualizzate le diverse architetture, visibili tramite microscopio ottico e microscopio elettronico a scansione (SEM).*

### 6.1 Realizzazione di *scaffolds*

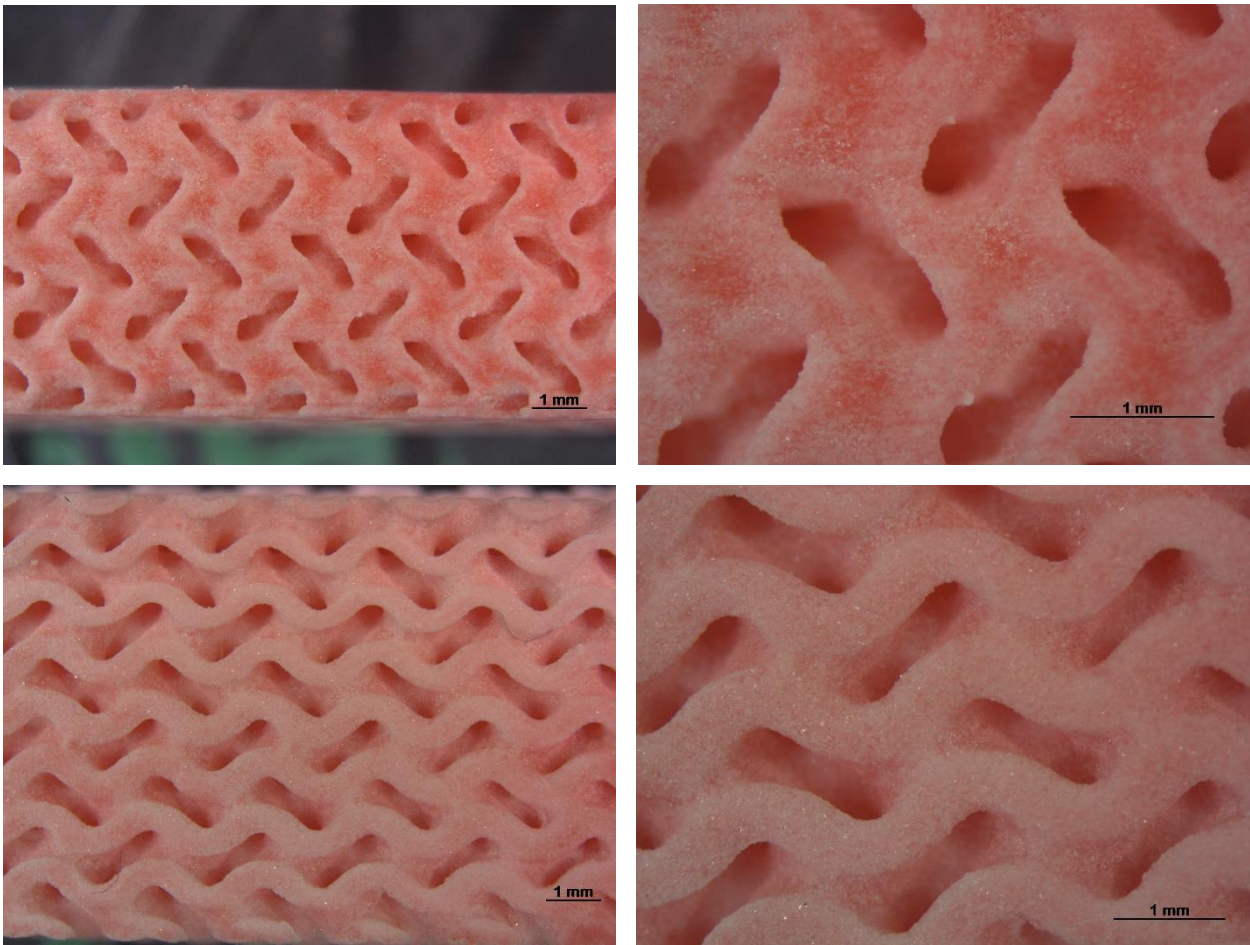
Grazie ai modelli presentati al §4.3.6.2, è stata effettuata la stampa tramite stereolitografia delle due tipologie di barrette. Per la stampa stereolitografica, nel nostro caso la DLP (*Digital Light Processing*), è stato necessario utilizzare un legante sacrificale (resina acrilica) fotosensibile, che evapora totalmente durante il trattamento termico.

In questo caso, si è scelto di provare ad utilizzare un sistema vetroceramico già testato, il WDE, per realizzare questo tipo di strutture complesse.

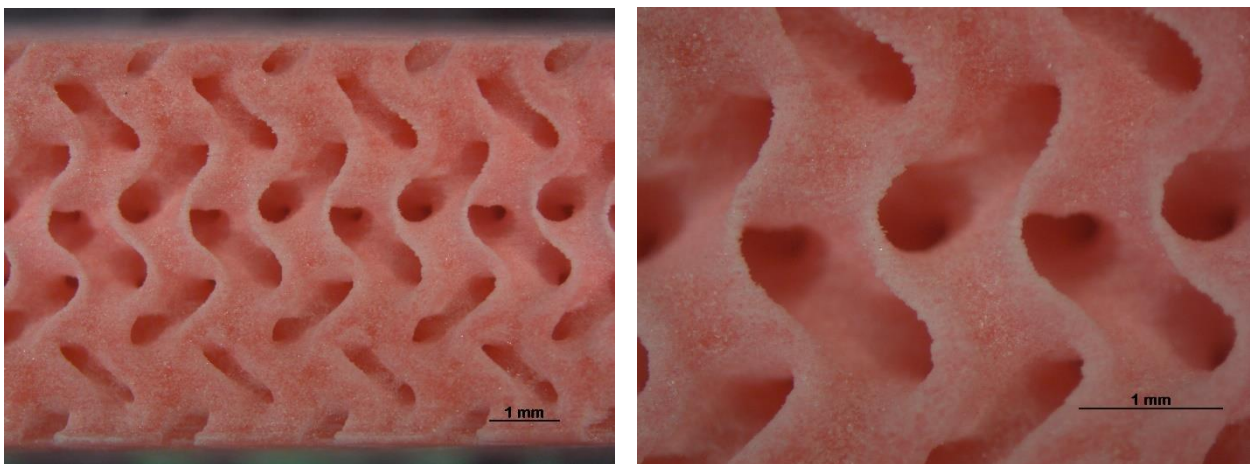
In seguito vediamo le immagini dei campioni ancora verdi; nella fase di realizzazione è risultato molto complesso far sì di ottenere degli *scaffolds* privi di difetti, soprattutto nel Giroide a densità variabile, poroso, da disegno CAD, all'80% nel mezzo e al 40% alle estremità. Infatti la non elevatissima risoluzione della macchina e le pareti particolarmente sottili, spesso sono risultate danneggiate, andando quindi ad influenzare i risultati delle prove. Inoltre è stato riscontrato un ulteriore problema, ovvero quello di rendere le estremità del Giroide variabile con una porosità aperta e passante, dato che la maggiore presenza di materiale già presente nel modello CAD fa sì che, fissando lo *scaffold* alla base del supporto della macchina durante la realizzazione, una superficie esterna dello *scaffold* risulti quasi totalmente densificata.

Questo risulta problematico per condurre le prove di flessione perché, essendo presente più materiale di quanto previsto, risulta ancor più grande l'inerzia dal lato delle "fibre tese"

della trave per il Giroide variabile, cosa che va' ad influenzare e non rendere reali i risultati delle prove.



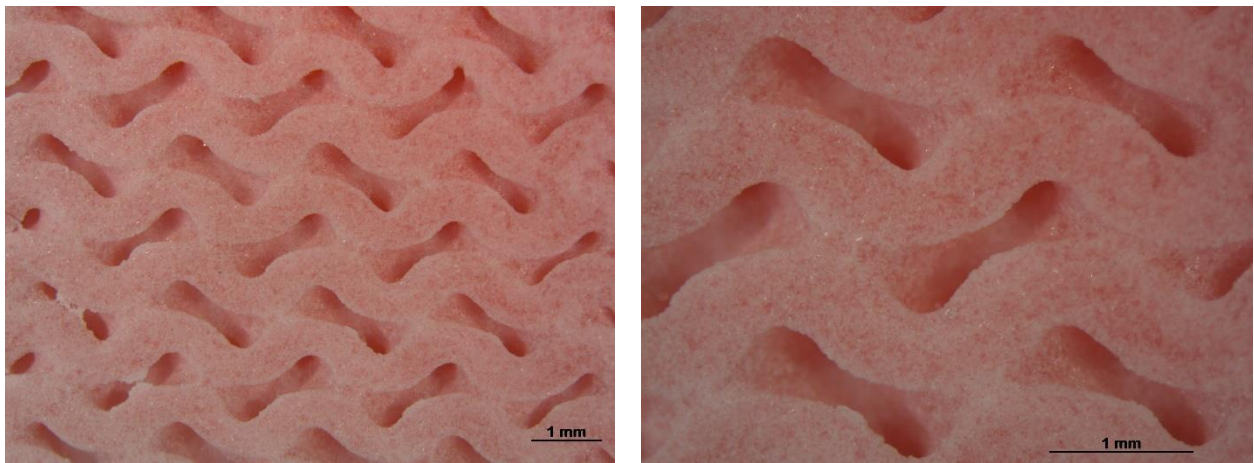
*Figura 6.1. Micrografie al microscopio ottico dello scaffold giroidale verde a porosità costante: vista laterale (sopra) e vista superiore (sotto).*



*Figura 6.2. Micrografie al microscopio ottico dello scaffold giroidale verde a porosità variabile; vista laterale a diversi ingrandimenti.*

Dall'analisi al microscopio ottico è possibile osservare il grado di dettaglio raggiunto con la tecnica DLP nella realizzazione di *scaffolds*. I campioni a porosità costante, come visibile in Figura 6.1 sono privi di difetti, ancora verdi; il processo di stampa DLP presenta elevata ripetibilità.

In Figura 6.2, invece, è visibile la struttura a porosità variabile, in vista laterale: è evidente il gradiente di porosità andando dall'esterno verso l'interno, e nella micrografia ad ingrandimento maggiore si notano le successive "passate" della stampante da un *layer* all'altro. Gli spessori in questo *scaffold* sono molto sottili, sono stati fatti diversi tentativi di stampa per ottenere una quantità minima di strutture disponibili per fare i test, ma è risultato praticamente impossibile ottenerne una senza difetti, dato che era sufficiente una leggera imperfezione nel processo di stampa o una condizione non ottimale nella viscosità dell'inchiostro per non ottenere questo tipo di spessori ma avere una struttura rotta e criccata.



*Figura 6.3. Micrografie al microscopio ottico del giroide variabile, con vista superiore a diversi ingrandimenti.*

Dal confronto tra la Figura 6.3 e 6.1 è visibile come la diversa densità sia visivamente percepibile, soprattutto nelle zone esterne; nel caso del giroide variabile c'è molta presenza di materiale.

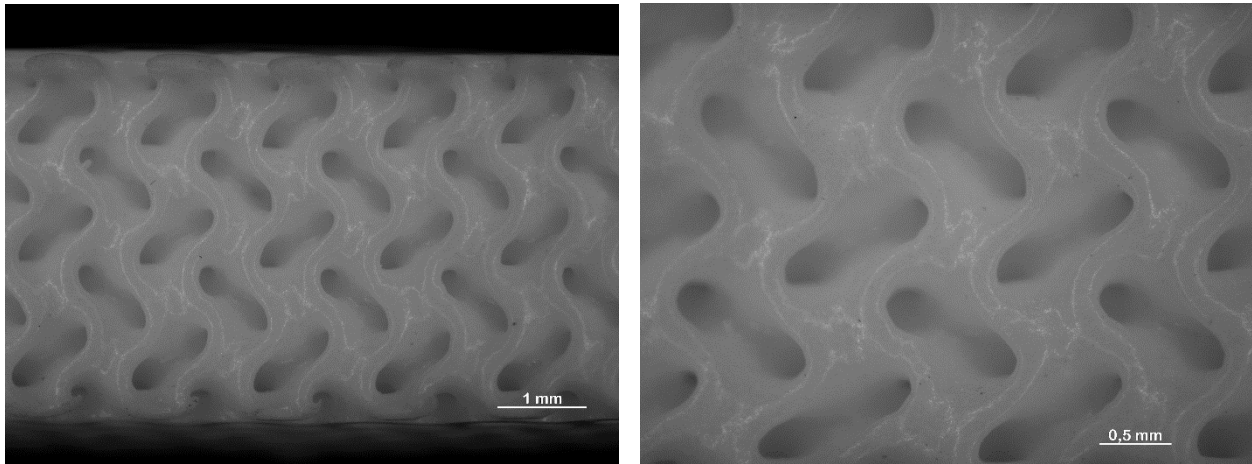


*Figura 6.4. Giroide costante, scaffold completo.*

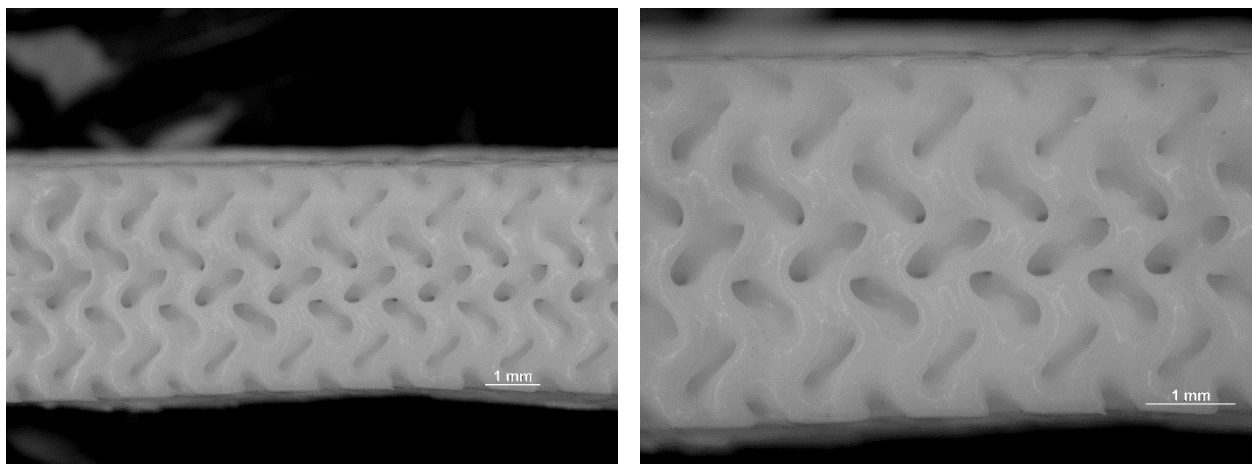
## 6.2 Gli scaffolds dopo trattamento termico

Su questi *scaffolds* è stato eseguito un trattamento termico a 1050 °C con rampe e mantenimenti, come descritto nel §4.3.6.3.

Di seguito sono presenti micrografie al microscopio ottico ed elettronico a scansione dei giroidi trattati.

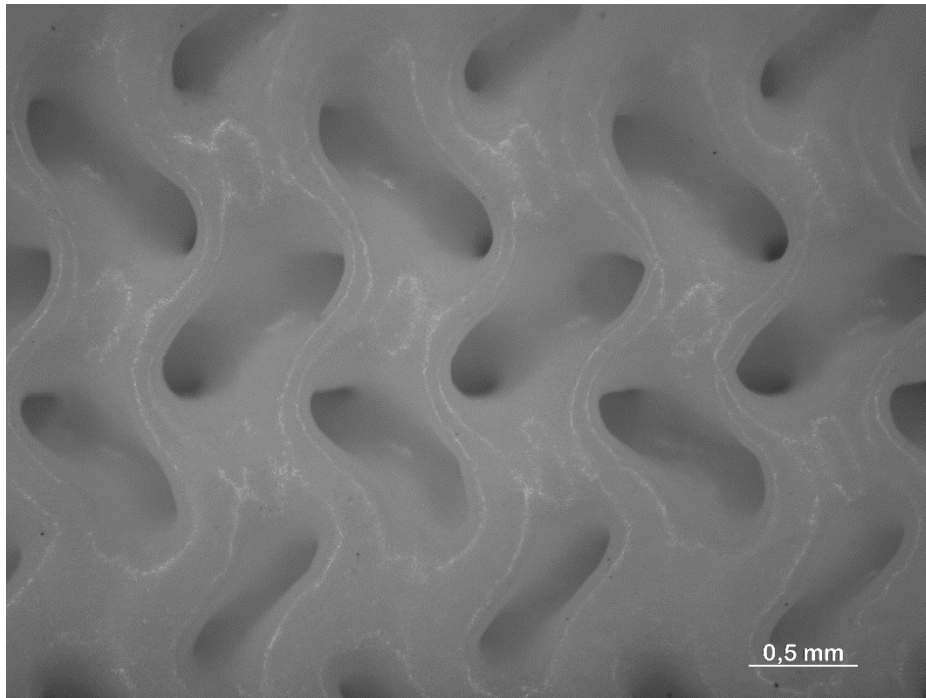


*Figura 6.5. Micrografie al microscopio ottico, a diversi ingrandimenti, del giroide costante visto lateralmente.*



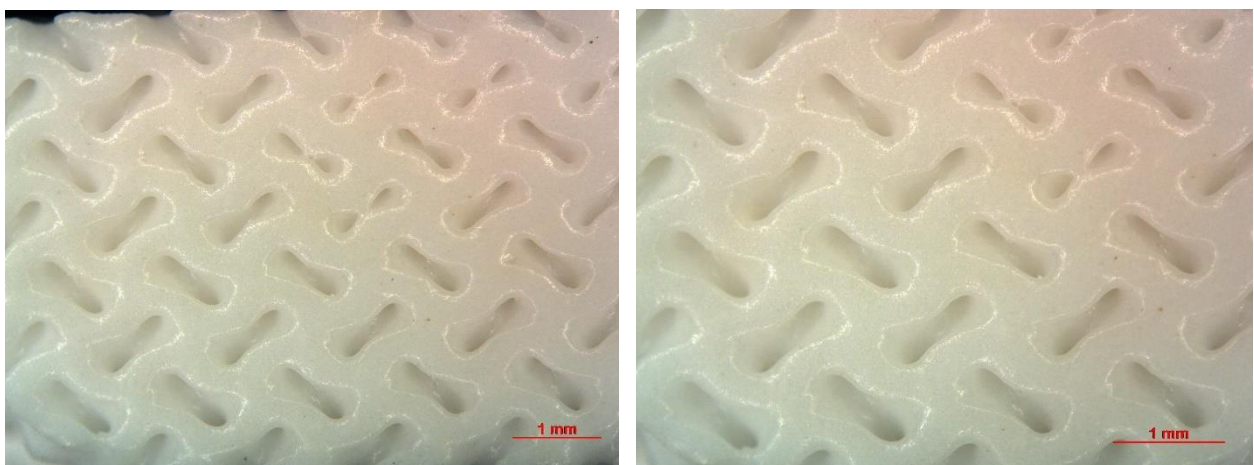
*Figura 6.6. Micrografie al microscopio ottico, a diversi ingrandimenti, del giroide variabile visto lateralmente.*

Dalla Figura 6.6 è constatabile che le porosità si distribuiscono, anche dopo trattamento termico, in maniera non omogenea, come desiderato: nel mezzo i pori sono più grandi e aperti, mentre alle estremità c'è maggior presenza di materiale cristallizzato e sinterizzato.



*Figura 6.7. Micrografia al microscopio ottico del dettaglio della porosità nel mezzo del giroide variabile. La definizione raggiunta è elevatissima.*

Proprio per l'elevata sinterizzazione del materiale, soprattutto dove la porosità non è elevata, le porosità tendono ad essere quasi chiuse del tutto, compromettendo lo scopo di realizzazione per protesi biomedicali, dove le porosità devono essere connesse. In Figura 6.8 è visibile quanto il giroide a porosità variabile abbia sinterizzato, fino a chiudere qualche poro esterno.



*Figura 6.8. Micrografia al microscopio ottico della vista superiore del giroide variabile, a diversi ingrandimenti.*

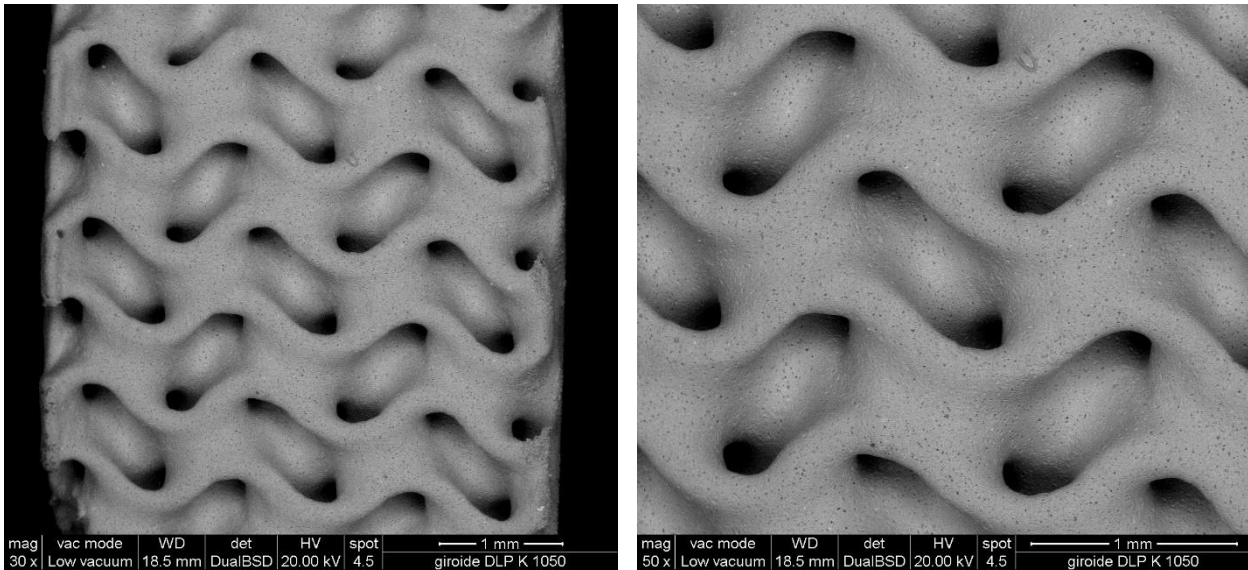


Figura 6.9. Micrografie al SEM del giroide a porosità costante; vista laterale a diversi ingrandimenti.

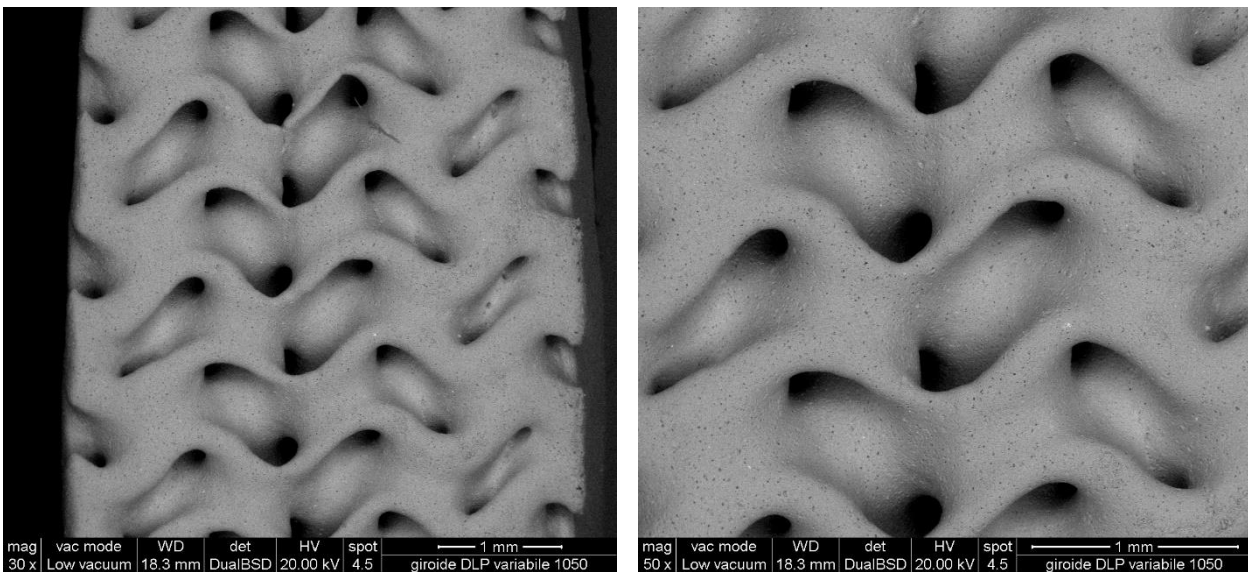


Figura 6.10. Micrografie al SEM del giroide a porosità variabile; vista laterale a diversi ingrandimenti.

Nella Figura 6.10 di sinistra, è possibile vedere quanto detto in precedenza: dopo il trattamento termico, a causa del ritiro volumetrico per evaporazione del legante sacrificale e successiva sinter-cristallizzazione, gli spessori molto sottili rischiano di criccarsi, compromettendo l'integrità strutturale dello *scaffold*.

Dunque, per motivi legati alla presenza di difetti derivanti dal processo di stampaggio o successivo trattamento termico con conseguente cricatura e densità troppo elevate raggiunte alle estremità degli *scaffolds* a porosità variabile, non è stato possibile ottenere

un numero sufficiente di campioni e idonei per il test di flessione a 4 punti e quindi il confronto con quelli a porosità costante.

## 6.2.1 Analisi XRD

Le fasi cristalline ottenute con il trattamento a 1050 °C sono quelle in Figura 6.11.

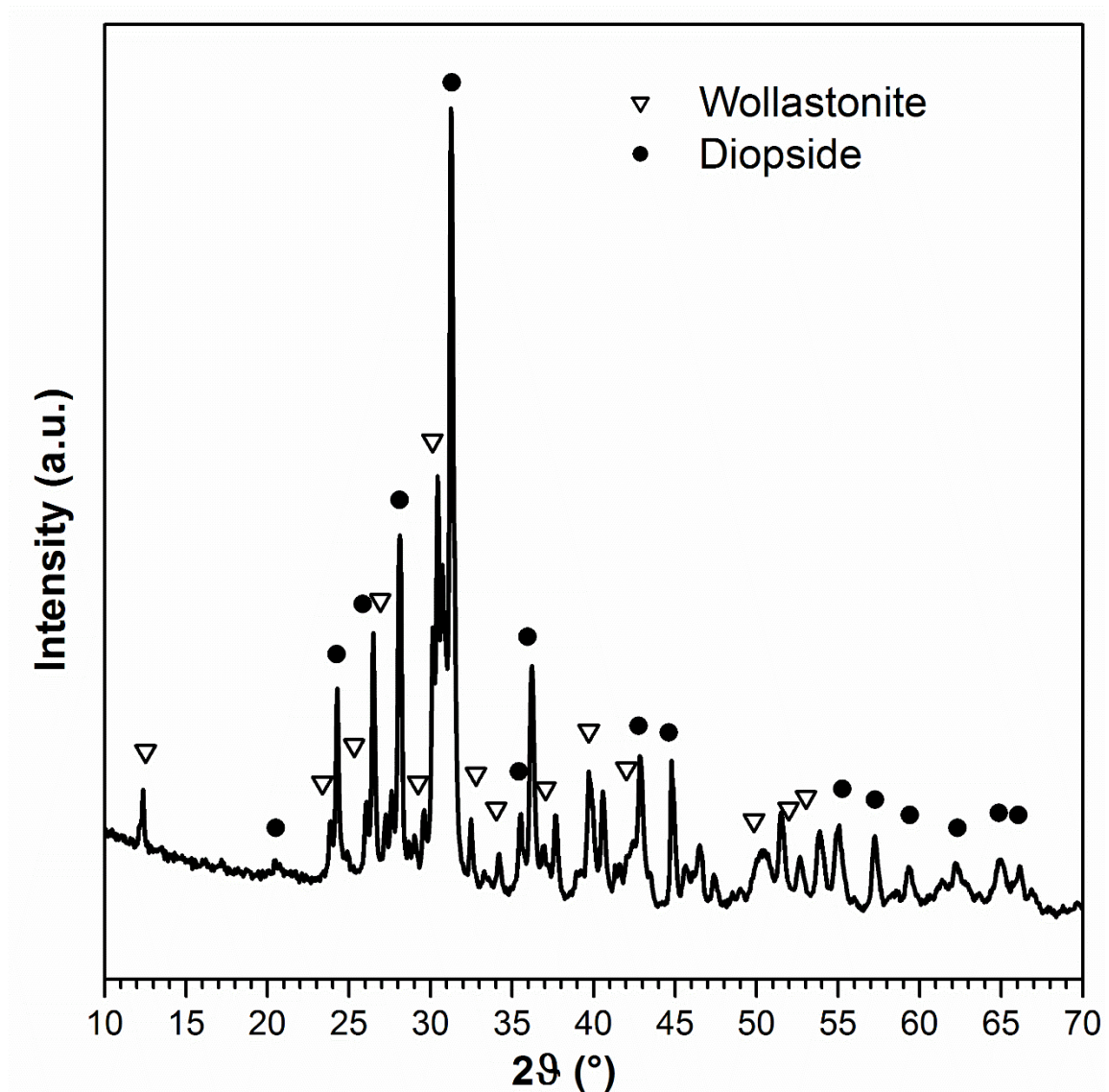


Figura 6.11. Spettro XRD degli scaffolds WDE trattati a 1050 °C.

Come anticipato da Elsayed et al. [68], le fasi presenti sono Wollastonite e Diopside, anche se il trattamento è stato fatto a 1050 °C.



## 6.2.2 Ritiri volumetrici

Analogamente a quanto fatto per gli *scaffolds* da DIW, sono state misurate le dimensioni, sia prima, sia dopo trattamento termico, e si è calcolato il ritiro volumetrico, mediante la Formula (12):

<i>Scaffold</i>	$V_i$ [mm <sup>3</sup> ]	$V_f$ [mm <sup>3</sup> ]	$\Delta V$ [%]
Giroide costante	2051,82	718,66	64,97

Tabella 6.1. Ritiro volumetrico scaffold giroide costante.

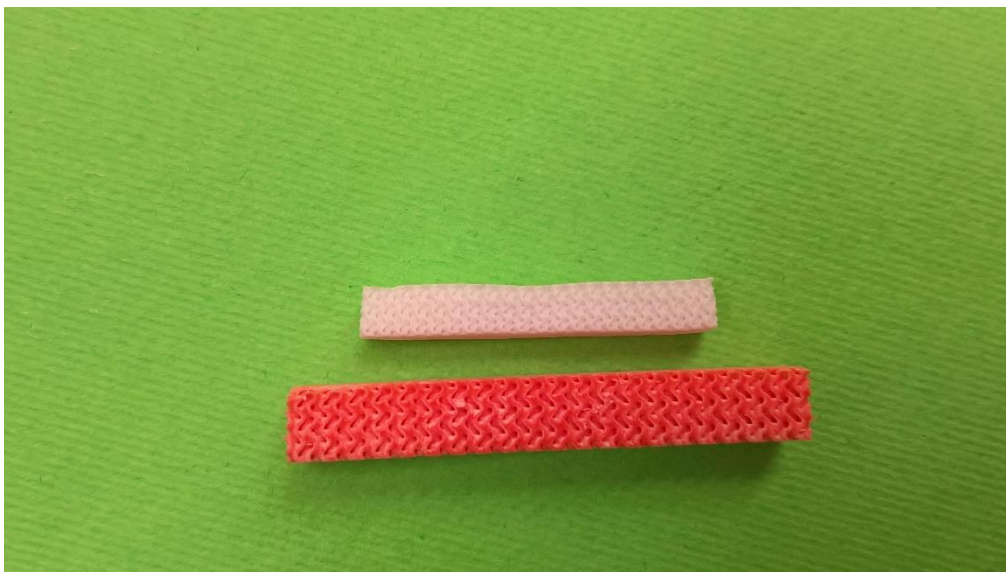


Figura 6.12. Confronto tra lo scaffold costante verde e il medesimo cotto, dopo trattamento termico.

## 6.3 Misure di densità e prova meccanica di flessione a 4 punti

Come anticipato al paragrafo precedente, purtroppo non è stata possibile la realizzazione di campioni di giroide variabile adeguati per il confronto tra i due valori di resistenza che avrebbero assunto le due strutture; dunque ci siamo limitati a fare delle prove sui campioni a porosità costante e all'unico riuscito "bene" a porosità costante.

<i>Scaffold</i>	$\rho, \text{geom}$ [g/cm <sup>3</sup> ]	$\rho, \text{app}$ [g/cm <sup>3</sup> ]	P aperta [%]	$\sigma_f$ [MPa]
Giroide costante	1,94 $\pm 0,10$	3,19 $\pm 0,0012$	39,24 $\pm 3,26$	75,58 $\pm 8,42$

*Tabella 6.2. Misure della densità geometrica, apparente, della porosità aperta e della resistenza flessionale di questa tipologia di scaffolds.*

Come si può vedere, la porosità risultante è solamente del 40%, a fronte di una porosità a modello CAD del 60%. Questo ci suggerisce che le porosità si sono in parte chiuse, forse a causa del fatto che il materiale ha sinterizzato troppo, a una temperatura troppo elevata.

Inoltre è plausibile anche che gli *scaffolds* non siano stati adeguatamente puliti dopo la stampa, e che sia rimasto del residuo d'inchiostro all'interno dei pori della struttura, trasformandosi quindi in vetroceramico dopo trattamento.

In ogni caso, dal confronto topologico che era l'obiettivo di questo lavoro con DLP, si sarebbe dovuta evincere una resistenza meccanica decisamente superiore per lo *scaffold* con il gradiente di porosità; l'unico campione che è sopravvissuto ci ha fornito una resistenza meccanica flessionale di 108 MPa, ad una porosità del 40%, un dato che deve essere preso con le pinze ma che dà l'idea concettuale di ciò che si voleva dimostrare.



*Figura 6.13. Prova di flessione a 4 punti sugli scaffolds di WDE, trattato a 1050 °C.*



*Figura 6.14. Altra visione della prova di flessione a 4 punti sugli scaffolds di WDE, trattati a 1050 °C.*

# Bibliografia

- [1] P. Rebesan, *Stampa 3D di materiali vetro-ceramici bioattivi*, Università degli Studi di Padova, 2017.
- [2] L. Hench, L. Larry e J. Wilson , «An Introduction to Bioceramics,» Il a cura di, Imperial College Press, 2013.
- [3] L. Hench, R. Splinter, W. Allen e T. Greenlee, «Bonding mechanism at the interface of ceramic prosthetic materials,» *J. Biomed. Mater. Res.*, n. A 5, pp. 117-141, 1971.
- [4] L. Hench, «Bioglass®: a short history and bibliography,» *J. Aust. Ceram. Soc.*, n. 40, pp. 1-42, 2004.
- [5] H. L.L., «The story of Bioglass®,» *J. Mater. Sci. Mater. Med.*, pp. 967-978, 2006.
- [6] R. Jones e L. Hench, «Regeneration of trabecular bone using porous ceramics,» *Current Opinion in Solid State and Materials Science*, n. 7, pp. 301-307, 2003.
- [7] A. Tampieri , G. Celotti e E. Landi, «From biomimetic apatites to biologically inspired composites,» *Anal Bioanal Chem* , n. 381, pp. 568-576, 2005.
- [8] J. Jones, «Review of bioactive glass,» *Acta Biomater.*, n. 9, pp. 4457-4486, 2013.
- [9] L. Hench, «Bioceramics: From Concept to Clinic,» *Journal of the American Ceramic Society*, n. 74, pp. 1487-1510, 1991.
- [10] G. Kaur, S. Waldrop, V. Kumar, O. Pandey e N. Sriranganathan, «An Introduction and History of the Bioactive Glasses,» *Advanced Structured Materials* 53, 2016.
- [11] Y. Zhou , Z. Huan e J. Chang, *Silicate-Based Bioactive Composites for Tissue Regeneration: Handbook of Bioceramics and Biocomposites*, 2015.
- [12] M. Montazerian e E. Zanotto, *History and trends of bioactive glass-ceramics*, 2016.
- [13] R. LeGeros, «Properties of osteoconductive biomaterials: calcium phosphates,» *Clin. Orthop. Relat. Res.* , n. 395, pp. 81-98, 2002.
- [14] A. Bagno, «Slides del corso "Biomateriali e tessuti biologici",» 2012.
- [15] Copyright, *Journal American Ceramic Soc.*, 1991.
- [16] L. Hench, «Bioactive Ceramics,» in *Ceramics' Materials Characteristics Versus In Vivo Behaviour*, vol. 523, P. Ducheyne e J. Lemons, A cura di, New York, 1988, p. 54.
- [17] U. Gross, R. Kinne, H. Schmitz e V. Strunz, «The response of Bone to Surface Active Glass/Glass-Ceramics,» *CRC Critical Reviews in Biocompatibility*, n. 2, p. 4, 1988.

- [18] S. Hulbert, J. Bokros, L. Hench, J. Wilson e G. Heimke, «Ceramics in Clinical Applications Past, Present and Future,» in *High Tech Ceramics*, P. Elsevier, A cura di, Amsterdam, 1987, pp. 189-213.
- [19] L. Hench , «Cementless Fixation,» in *Biomaterials and Clinical Applications*, A. Pizzoferrato, P. Marchetti , A. Ravaglioli e J. Elsevier, A cura di, Amsterdam, 1987, p. 23.
- [20] J. Black, «Systemic Effects of Biomaterials,» *Biomaterials*, n. 11, p. 5, 1984.
- [21] P. Ducheyne, U. Gross e V. Strunz, «The Anchoring of Glass Ceramics of Different Solubility in the Femur of the Rat,» *J. Biomed. Mater. Res.*, n. 607, p. 14, 1980.
- [22] N. Huebsch e D. Mone, «Inspiration and Application in the Evolution of Biomaterials,» *Nature*, n. 462, pp. 426-432, 2009.
- [23] L. Hench e J. Polak, «Third-generation Biomedical Materials,» *Science*, n. 295, pp. 1014-1017, 2002.
- [24] L. Hench e J. Wilson , «Surface-active biomaterials,» *Science* 226, n. 6, p. 630, 1984.
- [25] A. El-Ghannam, P. Ducheyne e I. Shapiro, «Formation of surface reaction products on bioactive glass and their effects on the expression of osteoblastic phenotype and the deposition of mineralized extracellular matrix,» *Biomaterials*, n. 23, p. 18295, 1997.
- [26] H. Mohammadi, M. Hafezi, N. Nezafati, S. Heasarki, A. Nadernezhad, S. Ghazanfari e M. Sepantafar, «Bioinorganics in bioactive calcium silicate ceramics for bone tissue repair: bioactivity and biological properties,» *J. Ceramic. Sci. Tech.*, n. 5, pp. 1-12, 2014.
- [27] K. Lin e A. et, «Study of the mechanical property and vitrobiocompatibility of CaSiO<sub>3</sub> ceramics,» *Ceram. Int.*, n. 31, pp. 323-326, 2005.
- [28] X. Liu, M. Morra, A. Carpi e B. Li, «Bioactive calcium silicate ceramics and coatings,» *Biomed. PharmaCother*, n. 62, pp. 526-529, 2008.
- [29] I. Silver, J. Deas e M. Erecinska, «Interactions of bioactive glasses with osteoblasts in vitro: Effects of 45S5 bioglass and 58S and 77S bioactive glasses on metabolism, intracellular ion concentrations and cell viability,» *Biomater.*, n. 22, pp. 175-185, 2001.
- [30] C. Wu e J. Chang, «A review of bioactive silicate ceramics,» *Biomed. Mater.*, n. 8, p. 12, 2013.
- [31] D. Hutmacher, «Scaffolds in tissue engineering bone and cartilage,» *Biomaterials*, n. 43, p. 212529, 2000.

- [32] C. Wu e J. Chang, «Silicate vibioceramics for bone tissue regeneration,» *J. Inorg. Mater.*, n. 43, p. 2829, 2013.
- [33] H. Mohammadi, M. Sepantafar e A. Ostadrahimi, «The Role of Bioinorganics in Improving the Mechanical Properties of Silicate Ceramics as Bone Regenerative Materials,» *J. Ceram. Sci. Tech.*, n. 6, pp. 1-8, 2015.
- [34] J. Ma, C. Chen, D. Wang, Y. Jiao e J. Shi, «Effect of magnesia on the degradability and bioactivity of sol-gel derived SiO<sub>2</sub>-CaO-MgO-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> system glasses,» *Colloid. Surface. B*, n. 81, pp. 87-95, 2010.
- [35] M. Vallet-Regi, A. Salinas, J. Roman e M. Gil, «Effect of magnesium content on the in vitro bioactivity of CaO-MgOSiO<sub>2</sub>-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> sol-gel glasses,» *J. Mater. Chem.*, n. 9, pp. 515-518, 1999.
- [36] Y. Huang, X. Jin, X. Zhang, H. Sun, J. Tu, T. Tang e K. Dai, «In vitro and in vivo evaluation of akermanite bioceramics for bone regeneration.,» *Biomaterials*, pp. 5041-5048, 2009.
- [37] Q. Chen, I. Thompson e A. Boccaccini, «45S5 Bioglass®-derived glass-ceramic scaffolds for bone tissue engineering,» *Biomaterials*, n. 27, pp. 2414-2425, 2006.
- [38] H. Kim, Knowles J.C. e H. Kim, «Hydroxyapatite porous scaffold engineered with biological polymer hybrid coating for antibiotic vancomycin release,» *J. Mater. Sci.*, n. 16, pp. 189-195, 2005.
- [39] I. Chung e A. et, «Bioadhesive hydrogel microenvironments to modulate epithelial morphogenesis,» *Biomaterials*, n. 29, pp. 2637-2645, 2008.
- [40] L. Hench, «Bioceramics, a clinical success,» *Am. Ceram. Soc. Bull.*, n. 77, pp. 67-74, 1998.
- [41] C. Wu, Y. Ramaswamy e H. Zreiqat, «Porous diopside (CaMgSi<sub>2</sub>O<sub>6</sub>) scaffold: A promising bioactive material for bone tissue engineering,» *Acta Biomater.*, n. 6, pp. 2237-2245, 2010.
- [42] J. A. Lewis, J. E. Smay, J. Stuecker e J. Cesarano, «Direct Ink writing of Three-Dimensional Ceramic Structures,» *J. Am. Ceram. Soc.*, n. 89, pp. 3599-3609, 2006.
- [43] E. Bernardo, L. Fiocco, G. Parcianello, E. Storti e P. Colombo, «Advanced ceramics from Preceramic Polymers Modified at the Nano-Scale: A Review.,» *Materials*, pp. 1927-1956, 2014.
- [44] P. Colombo, G. Mera, R. Riedel e G. Sorarù, «Polymer-Derived Ceramics: 40 Years of research and Innovatioin in Advanced Ceramics,» *J. Am. Ceram. Soc.*, n. 93, pp. 1805-1837, 2010.

- [45] L. Fiocco, Silicate ceramics from preceramic polymers and fillers, Ph.D. Thesis a cura di, Padova: Università degli Studi di Padova, 2016.
- [46] E. Ganzer, Schiume silicatiche da polimeri preceramici e fillers micro e nano metrici., Tesi di Laurea Magistrale in Ingegneria dei Materiali a cura di, Padova: Università degli Studi di Padova, 2014.
- [47] R. Da Rocha, P. Greil, J. Bressiani e A. De Almeida Bressiani, «Complex Shaped Ceramic Composites Obtained by Machining Compact Polymer-Filler Mixtures,» *Mater. Res.*, n. 8, pp. 191-196, 2005.
- [48] P. Colombo, V. Sglavo, E. Pippel e J. Woltersdorf, «Joining of Reaction Bonded Silicon Carbide Using a Preceramic Polymer,» *J. Mater. Sci.*, n. 33, pp. 2409-2416, 1998.
- [49] S. Otoishi e Y. Tange, «Growth rate and Morphology of Silicon Carbide Whiskers from Polycarbosilane,» *J. Cryst. Growth*, n. 200, pp. 467-471, 1999.
- [50] M. Wilhelm, M. Adam, M. Baumer e G. Grathwohl, «Synthesis and Properties of Porous Hybrid Materials Containing Metallic Nanoparticles,» *Adv. Eng. mater.*, n. 10, pp. 241-245, 2008.
- [51] C. Wang, J. Wang, C. Park e Y. Kim, «Cross-Linking Behavior of a Polysiloxane in Preceramic Foam Processing,» *J. Mater. Sci. Lett.*, n. 39, pp. 4913-5, 2004.
- [52] C. Balan e R. Riedel, «Rheological Investigations of a Polymeric Precursor for Ceramic Materials: Experiments and Theoretical Modeling,» *J. Optoelectr. Adv. Mater.*, n. 8, pp. 561-567, 2006.
- [53] Y. Blum, K. Schwartz e R. Laine, «Preceramic Polymer Pyrolysis. Part 1 Pyrolytic Properties of Polysilazanes,» *J. Mater. Sci.*, n. 24, pp. 1707-1718, 1989.
- [54] P. Colombo, T. Paulson e C. Pantano, «Atmosphere Effects in the Processing of Silicon Carbide and Silicon Oxycarbide Thin Films and Coatings,» *J. Sol-Gel. Sci. Tech.*, n. 2, pp. 601-604, 1994.
- [55] P. Greil, «Polymer Derived Engineering Ceramics,» *Adv. Eng. Mater.*, n. 2, pp. 339-348, 2002.
- [56] J. Cordelair e P. Greil, «Electrical conductivity measurements as a microprobe for structure transitions in polysiloxane derived Si-O-C ceramics,» *J. Eur. Ceram.*, n. 20, pp. 339-348, 2000.
- [57] A. Saha, R. Raj e D. Williamson, «A model for the nanodomains in polymer-derived SiCO,» *J. Am. Ceram. Soc.*, n. 89, pp. 2188-2195, 2006.
- [58] P. Colombo, R. Riedel, G. Soraru' e H. Kleebe, «Historical Review of the Development of Polymer Derived Ceramics (PDCs),» in *Polymer Derived*

- Ceramics: From Nanostructure to Applications.*, DEStech Publications Inc., 2009, pp. 1-13.
- [59] Annual spring meeting of the European Material Research Society (E-MRS), «The first European Symposium on Polymer Derived Ceramics (PDCs),» Strasburgo, 2004.
- [60] A. Saha, R. Raj e D. Williamson, «A model for the nanodomains in polymer-derived SiCO,» *J. Am. Ceram. Soc.*, n. 89, pp. 2188-2195, 2006.
- [61] Y. Xie, H. Li, C. Zhang, X. Gu, X. Zheng e L. Huang, «Graphene-reinforced calcium silicate coatings for load-bearing implants,» *Biomed. Mater.*, 2014.
- [62] M. Mehrali, E. Moghaddam, S. Shirazi, S. Baradaran, S. Latibari, H. Metselaar, N. Kadri, K. Zandi e N. Osman, «Synthesis, mechanical Properties and in vitro biocompatibility with osteoblasts of calcium silicate-reduced graphene oxide composites,» *ACS Appl. Mater. Interfaces* , n. 6, pp. 1947-1962, 2014.
- [63] D. Yang, W. Zhang e B. Jiang, «Ceramization and oxidation behaviors of silicone rubber ablative composite inder oxyacetylene flame,» *Ceram. Int.* , n. 39, pp. 1575-1581, 2013.
- [64] M. L. Griffith e J. W. Halloran, «Freeform Fabrication of ceramics via Stereolithography,» *Rapid. Prototyp. J.* , n. 16, pp. 29-35, 2010.
- [65] T. Chartier e A. et, «Fabrication of Millimeter Wave Components Via Ceramic Stereo-and Microstereolithography Processes,» *J. Am. Ceram. Soc.*, n. 91, pp. 2469-2474, 2008.
- [66] A. Zocca, P. Colombo, C. Gomes e J. Gunster, «Additive Manufacturing of Ceramics: Issues, Potentialities, and Opportunities.,» *Am. ceram. Soc.* , n. 98, pp. 1983-2001, 2015.
- [67] W. Zhou, D. Li e H. Wang, «A Novel Aqueous Ceramic Suspension for Ceramic Stereolithography,» *Rapid Prototyp. J.*, n. 16, pp. 29-35, 2010.
- [68] H. Elsayed, A. Zocca , J. Schmidt, J. Gunster, P. Colombo e E. Bernardo, «Bioactive glass-ceramic scaffolds by additive manufacturing and sinter-crystallization of fine glass powders.,» *J. Mater. Res.*, vol. 0, n. 0, 2018.
- [69] E. Bernardo, G. Scarinci , E. Edme, Michon U. e N. Planty, «Fast-sintered gehlenite glass-ceramics from plasma-vitrified municipal solid waste incinerator fly ashes,» *J. Am. Ceram. Soc.*, n. 92, p. 528, 2009.
- [70] A. Ray e A. Tiwari, «Compaction and sintering behaviour of glass-alumina composites.,» *Mater. Chem. Phys.*, n. 67, p. 220, 2001.
- [71] S. Perkowitz, *Universal foam: from cappuccino to the cosmos*, New York: Walker and Company, 2000.



- [72] L. Gibson e M. Ashby, *Cellular Solids Structure and Properties*, Cambridge: Cambridge University Press, 1999.
- [73] M. Ashby, «Cellular solids - scaling of properties,» in *Cellular Ceramics: Structure, Manufacturing, Properties and Applications*, M. Scheffler e P. Colombo, A cura di, Weinheim, Wiley-VCH Verlag GmbH, 2005.
- [74] P. Colombo , E. Bernardo e L. Biasetto, *J. Am. Ceram. Soc.*, n. 87, pp. 152-154, 2004.
- [75] L. Gerhardt e A. Boccaccini, «Bioactive glass and glass-ceramic scaffolds for bone tissue engineering,» *Materials*, vol. 3910, n. 3, p. 3867.
- [76] H. Ramay e M. Zhang, «Preparation of porous hydroxyapatite scaffolds by combination of the gel-casting and polymer sponge methods,» *Biomaterials*, n. 24, pp. 3293-3302, 2003.
- [77] B. Derby, «Printing and prototyping of tissues and scaffolds,» *science*, n. 338, pp. 921-926, 2012.
- [78] K. Leong, C. Cheah e C. Chua, «Solid freeform fabrication of three-dimensional scaffolds for engineering replacement tissues and organs,» *Biomaterials*, n. 24, pp. 2363-2378, 2003.
- [79] J. Jones, L. Ehrenfried e L. Hench, «Optimising bioactive glass scaffolds for bone tissue engineering,» *Biomaterials*, n. 27, pp. 964-973, 2006.
- [80] V. Karageorgiou e D. Kaplan, «Porosity of 3D biomaterial scaffolds and osteogenesis,» *Biomaterials*, n. 26, pp. 2474-5491, 2005.
- [81] S. Lien, L. Ko e T. Huang, «Effect of pore size on ECM secretion and cell growth in gelatin scaffold for articular cartilage tissue engineering,» *Acta Biomater.*, n. 5, pp. 670-679, 2009.
- [82] S. Hulbert e A. et, «Potential of ceramic materials as permanently implantable skeletal prostheses,» *J. Biomed. Mater. Res.*, n. 4, pp. 433-456, 1970.
- [83] D. Carter e D. Spengler, «Mechanical-properties and composition of cortical bone,» *Clin. Orthop. Relat. Res.*, n. 135, pp. 192-217, 1978.
- [84] L. Gibson, «The mechanical behaviour of cancellous bone,» *J. Biomech.*, n. 18, pp. 317-328, 1985.
- [85] P. Colombo e E. Bernardo, «Cellular Structures,» in *Ceramics Science and Technology*, vol. I, Weinheim, 2008.
- [86] R. Rice, «Mechanical Properties,» in *Cellular Ceramics: Structure, Manufacturing, Properties and Applications*, P. Colombo e M. Scheffler, A cura di, Weinheim, Wiley-VCH, 2005, pp. 291-312.

- [87] L. Dean-Mo, «Influence of Porosity and Pore Size on the Compressive Strength of Porous Hydroxyapatite Ceramic,» *Ceramics International*, n. 23, pp. 135-139, 1997.
- [88] R. Rice, «Comparison of stress concentration versus minimum solid area based mechanical property-porosity relations,» *J. Mater. Sci.*, n. 28, p. 2187, 1993.
- [89] K. Chopra, P. Mummery, B. Derby e J. Gough, «Gel-cast glass-ceramic tissue scaffolds of controlled architecture produced via stereolithography of moulds,» *Biofabrication*, n. 4, 2012.
- [90] C. Dam, R. Brezny e D. Green, «Compressive behavior and deformation-mode map of an open cell alumina,» *J. Mater. Res.*, n. 5, pp. 163-171, 1990.
- [91] Q. Fu, E. Saiz e A. Tomsia, «Bioinspired strong and highly porous glass scaffolds,» *Adv. Funct. Mater.*, n. 21, pp. 1058-1063, 2011.
- [92] J. Cordell, M. Vogl e A. Johnson, «The influence of micropore size on the mechanical properties of bulk hydroxyapatite and hydroxyapatite scaffolds,» *J. Mech. Behav. Biomed. Mater.*, n. 2, pp. 560-570, 2009.
- [93] I. Sabree, J. Gough e B. Derby, «Mechanical properties of porous ceramic scaffolds: Influence of internal dimensions,» *Ceramics International*, n. 41, pp. 8425-8432, 2015.
- [94] H. Elsayed, A. Romero, L. Ferroni, C. Gardin, B. Zavan e E. Bernardo, «Bioactive glass-ceramic scaffolds from novel "inorganic gel casting" and sinter-crystallization,» *Materials*, n. 10, p. 171, 2017.
- [95] A. Zocca, G. Franchin, H. Elsayed, E. Giuffredi, E. Bernardo e P. Colombo, «Direct Ink Writing of a preceramic polymer and fillers to produce hardystonite  $\text{Ca}_2\text{ZnSi}_2\text{O}_7$  bioceramic scaffolds,» *J. Am. Ceram. Soc.*, n. 99, pp. 1960-1967, 2016.
- [96] I. Paquien, J. Galy, J. Gérard e A. Pouchelon, «Rheological studies of fumed-silica-polydimethylsiloxane suspensions,» in *Colloids Surf. Physicochem Eng. Asp.*, 2005, pp. 165-172.
- [97] H. Elsayed, *Biodegradable and Bioactive Porous Polymer/Inorganic Nanocomposites Scaffolds for Biomedical Applications*, Padova: Università degli Studi di Padova, 2017.
- [98] M. Sainz, P. Pena, S. Serena e A. Caballero, «Influence of design on bioactivity of novel  $\text{CaSiO}_3\text{-CaMg}(\text{SiO}_3)_2$  bioceramics: In vitro simulated body fluid test and thermodynamic simulation,» *Acta Biomater.*, n. 6, p. 2797, 2010.
- [99] C. Fontana, *Materiali vetroceramici innovativi da polimeri preceramici e filler vetrosi*, Padova: Università degli Studi di Padova, 2017.

- [100] R. Gabbrielli, I. Turner e C. Bowen , «Development of modelling methods for materials to be used as bone substitutes,» *Key Eng. Mat.*, vol. II, n. 361-363, pp. 901-906, 2008.
- [101] A. Pasko, O. Fryazinov, O. Vilbrandt, P. Fayolle e V. Adzhiev, «Procedural function-based modelling of volumetric microstructures.,» *Graph Models*, n. 73, pp. 165-181, 2011.
- [102] S. Rajagopalan e R. Robb, «Schwarz meets Schwan: design and fabrication of biomorphic and durataxic tissue engineering scaffolds.,» *Med. Image Anal.*, n. 10, pp. 693-712, 2006.
- [103] F. Melchels, K. Bertoldi, R. Gabbrielli, A. Velders, J. Feijen e D. Grijpma, «Mathematically defined tissue engineering scaffold architectures prepared by stereolithography,» *Biomaterials*, n. 31, pp. 6909-6916, 2010.
- [104] G. Savio, R. Meneghello e G. Concheri, «Design of variable thickness triply periodic surfaces for additive manufacturing,» *Progress in Additive manufacturing*, pp. 1-10, 2019.
- [105] S. Dutta, A. Mukhopadhyay e D. Chakraborty, *Ibid.*, n. 71, p. 942, 1988.
- [106] W. Duckworth, *J. Amer. Ceram. Soc.*, n. 36, p. 68, 1953.